

# OZÔNIO NO CONTROLE DE MICRO-ORGANISMOS EM RESÍDUOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE

---

## OZONE IN THE CONTROL OF MICROORGANISMS IN HEALTH CARE WASTE

---

### EL OZONO EN EL CONTROL DE LOS MICROORGANISMOS LOS RESÍDUOS DE LOS SERVICIOS DE LA SALUD

Carmem Costa Martins<sup>1</sup>  
Dora Inés Kozusny-Andreani<sup>2</sup>  
Elena Carla Batista Mendes<sup>1</sup>

Os resíduos dos serviços de saúde estão recebendo merecida atenção nos últimos anos, não pela quantidade gerada, mas pelo risco potencial que representa à saúde e ao meio ambiente. O presente estudo teve como objetivo verificar a eficiência do ozônio no controle *in vitro* de micro-organismos isolados de Resíduos de Serviço de Saúde (RSS). Para os procedimentos microbiológicos foram retirados 10,0 g de RSS e diluídos em 90,0 mL de solução de NaCl (0,5%) e 0,1 mL de cada diluição foi inoculada em placas contendo os meios agarizados, incubados a 37 °C por 24-48 horas. Suspensões bacterianas foram expostas ao ozônio de forma direta por meio de um difusor. Foram identificados os seguintes micro-organismos patogênicos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*. Concluiu-se que o ozônio é eficiente no controle *in vitro* de micro-organismos isolados de RSS.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ozônio. Desinfecção. Resíduo. Meio ambiente.

*Waste from healthcare services are receiving the required attention in the last years, not for the amount generated, but for its potential risk towards health and environment. This study had as its main goal to verify the efficiency of the ozone in the in vitro control of isolated microorganisms in healthcare waste. For microbiological procedures 10.0 g of healthcare waste was used, diluted in 90.0 mL of NaCl (0.5%) and 0.1 mL of each dilution was inoculated in plates containing agar media, incubated at 37 °C for 24-48 hours. Bacterial suspensions were exposed to ozone directly through a diffuser. The following pathogenic microorganisms were identified: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Clostridium tetani, Staphylococcus sp, Aspergillus niger, Trichophyton mentagrophytes, Microsporium gypseum and Clostridium sp. It was concluded that ozone is efficient in the in vitro control of isolated healthcare waste microorganisms.*

**KEY WORDS:** Ozone. Disinfection. Residue. Environment.

*Los residuos de los servicios de salud están recibiendo merecida atención en los últimos años, no por la cantidad generada, sino por el riesgo potencial que representan para la salud y el medio ambiente. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la eficacia del ozono en el control in vitro de microorganismos aislados de Residuos de Servicios de Salud (RSS). Para los procedimientos microbiológicos se utilizaron 10,0 g de RSS, se diluyeron en 90,0 mL de solución de NaCl (0,5%) y 0,1 mL de cada dilución se inoculó en placas que contenían medios agarizados, se incubaron a 37*

<sup>1</sup> Enfermeiras. Mestres em Ciências Ambientais. Professoras do Curso de Enfermagem das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul. Santa Fé do Sul, São Paulo, Brasil. [carmemcardio@gmail.com](mailto:carmemcardio@gmail.com); [ecbmarin@hotmail.com](mailto:ecbmarin@hotmail.com)

<sup>2</sup> Professora. Doutora dos Programas de Pós-Graduação Ciências Ambientais e Bioengenharia da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo). Fernandópolis, São Paulo, Brasil. [doraines@terra.com.br](mailto:doraines@terra.com.br)

°C durante 24–48 horas. Suspensiones bacterianas fueron expuestas al ozono directamente a través de un difusor. Los siguientes microorganismos patógenos han sido identificados: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus* sp, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* y *Clostridium* sp. Se concluyó que el ozono es eficiente en el control in vitro de microorganismos aislados de RSS.

**PALABRAS-CLAVE:** Ozono. Desinfección. Residuo. Medio ambiente.

## INTRODUÇÃO

Para realizar a disposição final dos Resíduos dos Serviços de Saúde (RSS) no Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), pela Resolução n. 358, de 2005, estabelece que todos os resíduos sólidos que causam possível infecção devem ser submetidos a processos de tratamento em equipamento que promova redução de carga microbiana compatível com nível III de inativação microbiana. Posteriormente, esse material deve ser encaminhado para aterro sanitário licenciado ou local devidamente licenciado para disposição final dos RSS (BRASIL, 2005).

De acordo com a RDC n. 306, de 2004, o tratamento dos RSS deve ter uma redução da carga microbiana, em equipamento compatível com Nível III de inativação microbiana, o que significa inativação de bactérias vegetativas, fungos, vírus lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias com redução igual ou maior a 6Log10 e inativação de esporos do *Bacillus stearothermophilus* ou de esporos do *B. subtilis* com redução igual ou maior a 4Log10 (BRASIL, 2005).

Os métodos utilizados para tratamento dos RSS são autoclave, micro-ondas, tratamento químico, radiação ionizante, incineração (pirólise, plasma), sendo a autoclave e o micro-ondas os métodos mais utilizados no Brasil (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS, 2012). Esses tratamentos podem ser realizados pelo próprio estabelecimento, por empresas terceirizadas, por cooperativas ou consórcios de estabelecimentos geradores de RSS (BRASIL, 2005), não eximindo o estabelecimento gerador de resíduos da responsabilidade sobre o tratamento e destinação final.

Uma alternativa ainda pouco utilizada, descrita em alguns artigos, é o método de

descontaminação por ozônio. O ozônio tem sido aplicado com eficácia na indústria e higienização de alimentos (TRINDADE et al., 2012), no tratamento de água para reuso (PISARENKO et al., 2012), no tratamento de efluentes (WU et al., 2012), na desinfecção de máquinas de hemodiálise (CANADA et al., 2014), na odontologia, como tratamento alternativo de cárie (BURKE, 2012), na medicina (MARTÍNEZ-SANCHES et al., 2012), entre outros.

O uso do ozônio como um antimicrobiano seguro tornou-se notório nas últimas décadas, principalmente devido à sua atividade altamente oxidativa, que o caracteriza como um agente potencialmente biocida que atua sobre bactérias, fungos, vírus e helmintos (BOCCI; ZANARDI; TRAVAGLI, 2010).

A ação primária do ozônio sobre os micro-organismos se dá sobre a parede celular, decorrente da oxidação de glicopeptídeos, glicoproteínas e aminoácidos, alterando a permeabilidade e causando sua rápida lise. Ao penetrar no interior da célula, o ozônio recombina-se com elementos citoplasmáticos, promovendo a oxidação de aminoácidos e ácidos nucléicos, fato que acarreta clivagem com consequente morte celular (SILVA et al., 2011).

Considerando os trabalhos científicos que avaliaram a eficácia do ozônio na eliminação de micro-organismos patogênicos, bem como a relevância das vantagens obtidas com seu uso em diversos tipos de atividades, torna-se necessário o desenvolvimento e a realização de estudos controlados que determinem dosagens específicas e, desta forma, aprimorem as técnicas empregadas e os resultados obtidos.

O presente estudo teve como objetivo verificar a eficácia do ozônio no controle de micro-organismos patogênicos isolados dos Resíduos de Serviço de Saúde (RSS).

## MÉTODOS

Foram colhidas três amostras de resíduos sólidos de saúde de três locais diferentes no município de Santa Fé do Sul (SP), com intervalo de quinze dias. Todas as amostras foram colhidas na quinta-feira, no período da manhã, antes de a empresa realizar a coleta e encaminhar ao tratamento. O critério de inclusão foram os locais com maior geração de RSS, como a Instituição Hospitalar, o Ambulatório Médico de Especialidades (AME) e a Clínica de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul (FUNEC). Os RSS foram colhidos em frascos estéreis e mantidos em caixas isotérmicas a  $5+0,5$  °C por um período nunca superior a 2 horas e transportados ao laboratório de Microbiologia da Unicastelo/Campus Fernandópolis.

Os procedimentos das análises microbiológicas foram baseados nas metodologias preconizadas pela *Environmental Protection Agency* (EPA), *American Public Health Association* (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2005). De cada amostra foram retirados 10,0 g para serem submetidos à diluição seriada em 90,0 mL de solução salina (NaCl 0,5%). Após este procedimento, 0,1 mL de cada diluição foi inoculada em placas de Petri contendo os meios Agar triptecaseína soja (TSA, OXOID<sup>®</sup>), Eosina Azul de metileno (EMB, OXOID<sup>®</sup>), Agar Salmonell/Shigella (SS, OXOID<sup>®</sup>), Agar cetrimide (OXOID<sup>®</sup>), Agar seletivo para Clostridium (OXOID<sup>®</sup>), Agar sabouraud (OXOID<sup>®</sup>) e incubada a 37 °C por 24-48 horas. Após este período foi realizada a contagem e avaliação das características das colônias. As bactérias, caracterizadas pela coloração de Gram, e os fungos pelo Azul de algodão, foram identificados por métodos bioquímicos de acordo com a metodologia descrita por Winn et al. (2008).

O ozônio foi produzido por um gerador corona (Ozone & Life<sup>®</sup>). O oxigênio puro foi suprido via cilindro de oxigênio. O gás ozônio produzido de forma constante pelo equipamento foi conduzido por um tubo de silicone para o difusor por meio de pedra porosa, gerando 2 ppm/min/L. As suspensões bacterianas (100 mL) foram expostas ao ozônio de forma direta, por meio do difusor, em temperatura controlada de 25 °C (PÉREZ; POZNYAK; CHAIREZ, 2014).

Cada espécie microbiana identificada foi inoculada em 20 mL de Caldo triptecaseína soja (TSB) e incubada a 37 °C por 24 horas, quando 1 mL desta cultura foram diluídos em 99 mL de NaCl (0,5%) e submetidas a ozonização. Antes da aplicação do ozônio foi retirado 0,1 mL de solução para verificação do número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) dos micro-organismos.

Cada diluição bacteriana foi exposta ao ozônio por 15 minutos. Para a verificação do efeito do ozônio sobre os micro-organismos, foi coletado 0,1 mL de amostra, em intervalos de 1 minuto até completar 15 minutos. Após cada coleta, as amostras foram inoculadas em triplicatas, em meio Agar triptecaseína soja (TSA, OXOID<sup>®</sup>) para bactérias e Agar sabouraud (OXOID<sup>®</sup>) para fungos, após incubadas a 37 °C por 24-48 horas, quando foi verificada a eficácia do ozônio pela determinação das UFC. Foi considerado eficaz quando não se observou crescimento de micro-organismos. Cada procedimento foi repetido sete vezes. Foi determinada também variação de carga microbiana, a qual foi calculada a partir da seguinte expressão:

$$\text{Variação da carga microbiana}(CM) = \frac{CM_n - CM_{n-1}}{CM_{n-1}}$$

Sendo n variando de 1 a 15 referente aos minutos de exposição ao ozônio. Sendo assim, a variação da carga microbiana no primeiro minuto de exposição ao ozônio (n=1) foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Variação da carga microbiana}(CM) = \frac{CM_1 - CM_0}{CM_0}$$

Assim por diante para os demais instantes de tempo. Vale ressaltar que a ocorrência de variação negativa pressupõe diminuição da carga microbiana ao longo do tempo; quando a variação foi positiva, houve aumento da carga microbiana com o tempo.

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva, com cálculo de média, desvio padrão, mediana e valores de mínimo e máximo com abordagem de teste associativo qui-quadrado e teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn *post-hoc*, ao nível de significância de 0,05. Os *softwares* estatísticos utilizados para a análise foram Minitab 15<sup>®</sup> e InStat<sup>®</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio dos procedimentos microbiológicos dos RSS obtidos nos três locais geradores, foi

verificado um total de 1.502 ocorrências de diversos micro-organismos associados à contaminação de RSS, os quais foram identificados: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*.

Com o objetivo de tornar possível a análise associativa, alguns micro-organismos com representatividade amostral baixa foram agrupados e denominados de “outros”, sendo: *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*.

Os resultados expostos na Tabela 1 apresentam associação significativa entre a ocorrência dos micro-organismos com o local avaliado, visto que o valor de p encontrado para o teste associativo resultou inferior ao nível de significância adotado  $p > 0,001$ . Os RSS gerados pela instituição de ensino (FUNEC) apresentaram maior contaminação por *Pseudomonas aeruginosa* (30), enquanto que, no Ambulatório Médico de Especialidades (AME), predominou *Escherichia coli* (21) e, no Hospital (SANTA CASA), *Candida albicans* (913).

**Tabela 1** – Percentual de ocorrência dos micro-organismos isolados de RSS – Fernandópolis (SP), Brasil – 2014

Micro-organismo	Locais			Total
	FUNEC	AME	Santa Casa	
<i>E. coli</i>	16 (24,2%)	<b>21 (51,2%)</b>	194 (13,9%)	231 (15,4%)
<i>P. aeruginosa</i>	<b>30 (45,5%)</b>	2 (4,9%)	252 (18,1%)	284 (18,9%)
<i>Candida albicans</i>	14 (21,2%)	9 (22,0%)	<b>913 (65,4%)</b>	936 (62,3%)
Outros	6 (9,1%)	9 (22,0%)	36 (2,6%)	51 (3,4%)
Total	66 (4,4%)	41 (2,7%)	1395 (92,9%)	1502 (100%)
Valor p*	<b>&lt;0,001</b>			

Fonte: Elaboração própria.

\*Valor p referente ao teste qui-quadrado a 5% de significância.

Silva, Campos e Ferreira (2011) analisaram a composição microbiológica dos RSS classificados como infecciosos e constataram a presença de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp e fungos, com valores que variaram de  $10^8$  a  $10^9$  UFC.

Nascimento et al. (2009) avaliaram a ocorrência de bactérias clinicamente relevantes em pilha de RSS em um aterro sanitário no município de Juiz de Fora (MG). Foram isoladas bactérias Gram negativos da família *Enterobacteriaceae*, identificados como *Citrobacter sp*, *Providencia sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Escherichia coli*, *Hafnia sp*, *Morganella sp*. Entre os bacilos Gram negativos não fermentadores foram identificados: *Acinetobacter sp* e *Pseudomonas sp*. Na presente pesquisa, somente *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foram identificadas, mostrando que existem variações quanto às espécies bacterianas. A ocorrência de cepas multirresistentes sustenta a hipótese dos RSS atuarem como reservatórios de marcadores de resistência,

com impacto ambiental, e expõem a população humana e animal a riscos de transmissão de doenças infecciosas associadas a micro-organismos multirresistentes.

Os resultados expostos na Tabela 2 apresentam diferenças significativas na contagem de mesófilos totais, quando os locais de coleta foram comparados, visto que o valor de p encontrado foi inferior a 0,05 ( $p=0,005$ ). A contagem de mesófilos totais foi utilizada para avaliar o perfil microbiológico dos RSS, pois alguns grupos específicos de micro-organismos são frequentemente pesquisados, como os aeróbios mesófilos, coliformes e psicrotóxicos. O número de mesófilos totais no Hospital foi muito superior em relação aos da instituição de ensino e do AME. De acordo com os resultados do teste de comparação múltipla de Dunn, a contagem de mesófilos totais da FUNEC e do AME não diferem entre si, porém ambos diferem de forma significativa da contagem de mesófilos totais do Hospital ( $p=0,005$ ).

**Tabela 2** – Contagem total de micro-organismos mesófilos isolados de RSS – Fernandópolis (SP), Brasil – 2014

Local	Número de mesófilos totais					Valor p*
	n	$\bar{x} \pm s$	Md	Mín	Máx	
FUNEC	6	$5,28.10^1 \pm 6,54.10^1$	$2,20.10^{1a}$	0,00	$1,40.10^2$	$p < 0,01$
AME	6	$1,40.10^1 \pm 1,31.10^1$	$1,00.10^{1a}$	$1,00.10^0$	$3,40.10^1$	
Santa Casa	6	$6,66.10^8 \pm 5,16.10^8$	$1,00.10^{0b}$	$4,10.10^1$	$1,00.10^0$	

Fonte: Elaboração própria.

\*Valor p referente ao teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

Com relação aos riscos de saúde associados à RSS, autores confirmam os perigos existentes pela sobrevivência de micro-organismos dotados de elevada resistência às condições ambientais. No que se refere a patógenos vivos encontrados nos RSS, o gênero *Bacillus* (80-90%) é predominante, enquanto que *Staphylococcus* e *Streptococcus* variam entre 5 e 10%. A maioria dos patógenos comuns presentes nos RSS são

*Staphylococcus aureus* (a partir de 2-10 colônias por grama resíduo), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, juntamente com números variados de outros patógenos hospitalares comuns, como *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterobacter* (AL-GHAMDI, 2011).

Os fungos da espécie *Trichophyton* e *Microsporium* podem causar dermatomicoses, *Candida albicans* leva ao aparecimento de

candidíase disseminada e candidíase mucocutânea crônica e, no caso de *Aspergillus*, as principais patologias associadas são a aspergilose invasiva, aspergilose broncopulmonar alérgica e aspergiloma (WINN et al., 2008). Estas espécies fúngicas foram isoladas nos RSS da Santa Casa, AME e FUNEC, consideradas como potenciais veiculadores de doenças infecciosas, quando os RSS não são tratados adequadamente. Devido à alta carga microbiana verificada, os resíduos de serviços de saúde exigem atenção especial e técnicas corretas de manejo e gerenciamento

devido ao seu potencial poluente contra o meio ambiente e infeccioso contra a saúde humana (RIZZON; NODAN; REIS, 2015).

Os resultados expostos na Tabela 3 apresentam a efetividade do ozônio contra todos os micro-organismos identificados, visto que, em determinados períodos de exposição, não houve contagem microbiana, revelando a efetividade como um agente antimicrobiano. Em todos os casos, a comparação da ação do ozônio em relação ao tempo e exposição foi significativa ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 3** – Contagem de colônias de cada micro-organismo avaliado em relação ao tempo de exposição ao ozônio – Fernandópolis (SP), Brasil – 2014

Tempo de exposição ao ozônio (minutos)	Microorganismos							
	C. albicans	A. niger	T. mentagrophytes	M. gypseum	P. aeruginosa	C. tetani	S. aureus	E. coli
0	1,0.10 <sup>9A</sup>	2,5.10 <sup>1A</sup>	2,7.10 <sup>1A</sup>	1,8.10 <sup>1A</sup>	1,0.10 <sup>9A</sup>	1,0.10 <sup>9A</sup>	1,0.10 <sup>9A</sup>	1,0.10 <sup>9A</sup>
1	2,1.10 <sup>2A</sup>	1,5.10 <sup>1A</sup>	1,8.10 <sup>1A</sup>	0,0 <sup>B</sup>	1,9.10 <sup>2A</sup>	2,8.10 <sup>5A</sup>	0,0 <sup>B</sup>	7,7.10 <sup>2A</sup>
2	2,3.10 <sup>1AB</sup>	1,1.10 <sup>1AB</sup>	1,2.10 <sup>1A</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	3,1.10 <sup>1AB</sup>	0,0 <sup>B</sup>	3,0.10 <sup>1AB</sup>
3	4,0.10 <sup>1A</sup>	0,4.10 <sup>1AB</sup>	1,1.10 <sup>1A</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	3,7.10 <sup>1AB</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
4	2,3.10 <sup>1AB</sup>	0,4.10 <sup>1AB</sup>	1,0.10 <sup>1AB</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	2,3.10 <sup>1AB</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
5	2,1.10 <sup>1AB</sup>	0,1.10 <sup>1B</sup>	0,4.10 <sup>1AB</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
6	0,0 <sup>B</sup>	0,1.10 <sup>1B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
7	0,0 <sup>B</sup>	0,1.10 <sup>1B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
8	0,0 <sup>B</sup>	0,1.10 <sup>1B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
9	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
10	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
11	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
12	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
13	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
14	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>
15	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>	0,0 <sup>B</sup>

Fonte: Elaboração própria.

Nota: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas na contagem microbiana, quando os minutos de exposição ao ozônio são comparados pelo teste de Dunn a  $p < 0,05$ .

Em alguns casos, a contagem microbiana foi baixa e não diferiu de forma significativa das contagens microbianas nulas, como foi o caso dos minutos 2, 4 e 5 em relação ao intervalo de minutos de 6 a 15, que apresentou contagem microbiana nula para *Candida albicans*,

conforme demonstra a Tabela 3, ao evidenciar que o ozônio agiu de forma efetiva em poucos minutos. No entanto, como o objetivo era reduzir a carga microbiana, o tempo de exposição ao agente de 6 minutos foi suficiente para tornar a carga microbiana nula. Então, por mais que as

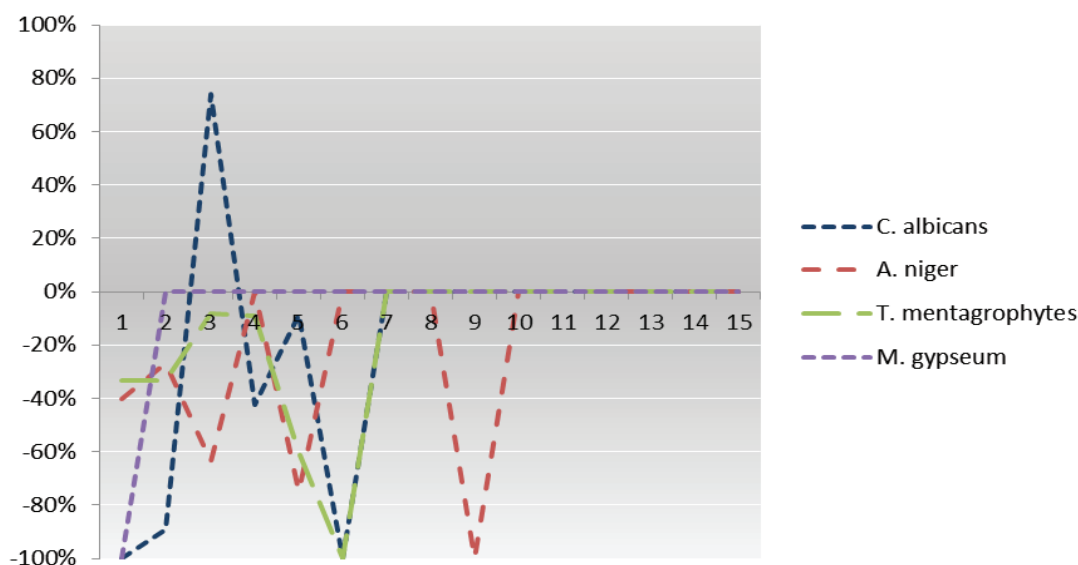


cargas microbianas baixas não difiram das cargas microbianas nulas, o material não pode ser considerado livre de contaminação, pois ainda há micro-organismos vivos. Assim, o tempo de exposição do ozônio é efetivo para diminuição da carga microbiana.

O Gráfico 1 apresenta a variação numérica da carga microbiana dos fungos *Candida albicans*,

*Trichophyton mentagrophytes*, *microsporum gypseum* e *Asprgillus niger*. Vale ressaltar que a variação negativa permite pressupor-se que houve diminuição da carga microbiana ao longo do tempo; quando a variação é positiva, houve aumento da carga microbiana com o tempo.

**Gráfico 1** – Variação da carga microbiana dos fungos em função do tempo de exposição ao ozônio



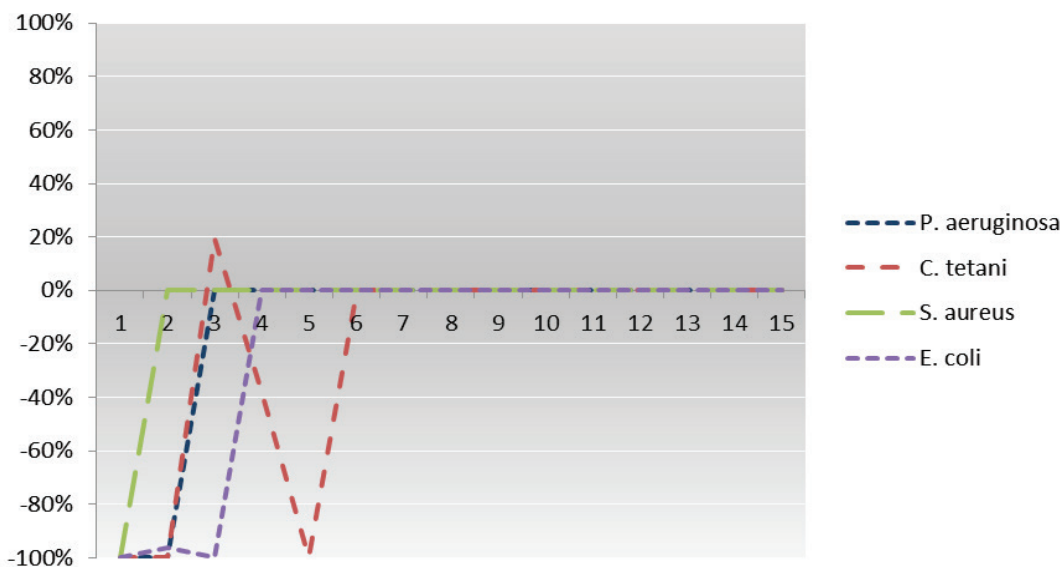
Fonte: Elaboração própria.

Em relação aos fungos, em todos os casos, as variações foram negativas, exceto para o fungo *C. albicans*, que apresentou variação positiva no minuto 3. Isto evidencia que houve aumento do número de colônias do minuto 2 para o minuto 3 de exposição ao ozônio; no entanto, esse aumento foi revertido no minuto seguinte. Quando a variação atinge -100% significa que toda a carga microbiana foi extinta. Assim, nesse tempo, o ozônio agiu como agente esterilizante. Para *C. albicans*, a variação atingiu 100% no minuto 6, para *A. niger* no minuto 9, para *T. mentagrophytes* no minuto 6 e para o *M. gypseum* no minuto 1.

Estudo realizado com estirpes ATCC de fungos dermatófitos *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, para testar a eficácia do ozônio

na desinfecção de calçados de pacientes contaminados com onicomicose, o gás ozônio foi significativamente eficaz na higienização desses calçados e representa uma nova terapia adjuvante aos medicamentos antifúngicos e/ou dispositivos para tratar melhor pacientes com onicomicose e *tinea pedis* tanto a curto como a longo prazo (GRUPTA; BRINTNELL, 2013). O *T. mentagrophytes*, no presente estudo, teve uma redução significativa no primeiro minuto e sua inativação completa ocorreu no sexto minuto de ozonização.

O Gráfico 2 apresenta as variações da carga microbiana das bactérias *Pseudomonas aeruino-sa*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

**Gráfico 2** – Variações da carga microbiana das bactérias em função do tempo de exposição ao ozônio

Fonte: Elaboração própria.

Evidenciou-se diminuição da carga microbiana com o aumento do tempo de exposição do micro-organismo ao ozônio. Isso, mais uma vez, comprova a ação efetiva do ozônio como agente desinfetante (Gráfico 2). Prabakaram et al. (2012), ao analisarem o efeito do ozônio sobre bactérias patogênicas humanas *Escherichia coli* e *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimurium* e *Klebsiella pneumoniae*, utilizando diferentes intervalos de tempo, verificaram que *E. coli* revelou elevada sensibilidade ao tratamento com ozônio, em comparação com as demais cepas bacterianas tratadas.

Estudo realizado por Souza e Daniel (2008), para avaliar a inativação de *E. coli*, *colifagos* e *Clostridium perfringens* em água, por meio da utilização do ozônio em diferentes dosagens e tempo de contato, evidenciou que houve uma redução desses micro-organismos; a maior inativação foi para a *E. coli*, com ozônio na dosagem de 3 mg/L e tempo de contato de 5 minutos; já para o *Clostridium perfringens* a dosagem de ozônio e tempo de contato foram, respectivamente, 5 mg/L em 20 minutos. Estes resultados vêm ao encontro dos obtidos no presente estudo, no qual se verificou que a bactéria *E. coli* foi inativada a partir do terceiro minuto

de exposição ao ozônio com 2 L/m. Taran et al. (2011) realizaram experimentos sobre a inatividade de bactérias em água destilada ozonizada e utilizaram a concentração de ozônio de 10 mg/L. Os autores verificaram que ocorreu a inativação de *Bacillus cereus*, *E. Coli* e *S. aureus* entre 3 a 5 minutos, enquanto que a inativação de esporos, em 15 minutos.

Para Sousa et al. (2011), não há dúvidas quanto à capacidade antimicrobiana e esterilizante do ozônio; resta ainda questionar as suas vantagens em comparação com outros métodos convencionais existente no mercado. Já Silva et al. (2011) ressaltam que o uso do ozônio requer alguns cuidados, pois é um gás extremamente tóxico em concentrações elevadas.

A relação entre carga microbiana, tempo, concentração e capacidade de difusão do ozônio são aspectos a serem analisados, para que se possa definir sua capacidade como esterilizante. Outro aspecto é a toxicidade, tanto no tocante à sua reação com os artigos quanto ao risco ocupacional (SOUSA et al., 2011).

O alto potencial infeccioso dos RSS interfere de forma negativa na saúde humana, exigindo uma atenção especial e técnicas corretas de manejo, tratamento e gerenciamento. Desta



maneira, o manejo eficiente envolve técnicas que funcionem como barreiras aos micro-organismos patogênicos, prevenindo e minimizando seu potencial infectante à saúde humana e ambiental (SOUZA, 2006). Com isso, buscam-se novas tecnologias para o tratamento desses resíduos. Neste contexto, o ozônio apresenta características promissoras, pelo fato de ser um potente oxidante e não gerar poluição, quando utilizado na dosagem adequada.

## CONCLUSÃO

No isolamento e identificação dos micro-organismos presentes nos Resíduos de Serviço de Saúde do município de Santa Fé do Sul (SP), constataram-se elevadas concentrações de micro-organismos patogênicos, principalmente na área hospitalar, já que, neste ambiente, ocorre um percentual elevado de procedimentos invasivos e clientes susceptíveis a infecções hospitalares.

Para fins desta pesquisa, as espécies isoladas dos RSS foram *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*. O controle desses micro-organismos ocorreu por meio da aplicação do ozônio dissolvido em água e pela exposição a diferentes tempos, apresentando maior eficácia nas bactérias, quando comparados com os fungos.

O estudo realizado permitiu concluir-se que o ozônio é eficiente no controle *in vitro* de micro-organismos isolados de RSS. Esta conclusão evidencia a possibilidade de o ozônio ser utilizado como método de tratamento dos resíduos de serviços de saúde. Portanto, sugere-se que, em futuras pesquisas, o ozônio seja aplicado no próprio resíduo.

## REFERÊNCIAS

AL-GHAMDI, Abdulaziz. Y. Review on hospital wastes and its possible treatments. *Egypt. acad. J. biolog. sci.*, Cairo, v. 3, n. 1, p. 55-62, 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 20th. ed. New York, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE LIMPEZA PÚBLICA E RESÍDUOS ESPECIAIS. *Panorama dos resíduos sólidos no Brasil*. 10. ed. São Paulo, 2012.

BOCCI, Velio; ZANARDI, Iacopo; TRAVAGLI, Valter. Ozonization of human HIV-infected plasmas for producing a global vaccine. *Virulence*, Reino Unido, v. 1, p. 215-217, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. *Resolução n. 358, de 29 de abril de 2005*. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35805.pdf>>. Acesso em: 14 out. 2014.

BURKE, Trevor F.J. Ozone and caries: a review of the literature. *Dent Update*, Londres, v. 39, n. 271-272, p. 275-278, 2012.

CANADA, Morian L.M. et al. Effectiveness of ozonated water in the reprocessing of blood dialyzers. *Rev. bras. eng. bioméd.*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3, p. 215-219, 2014.

GRUPTA, Aditya K.; BRINTNELL, William C. Sanitization of contaminated footwear from onychomycosis patients using ozone gas: a novel adjunct therapy for treating onychomycosis and tinea pedis? *J. cutan. med. surg.*, Hanover, v. 17, n. 4, p. 243-249, 2013.

MARTÍNEZ-SANCHES, Gregorio et al. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease. *Eur. J. pharmacol.*, Amsterdam, v. 691, p. 165-162, 2012.

NASCIMENTO, Thiago C. et al. Ocorrência de bactérias clinicamente relevantes nos resíduos de serviços de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba, v. 42, n. 4, p. 415-419, 2009.

PÉREZ, Arizbeth; POZNYAK, Tatyana; CHAIREZ, Isaac. Microorganism inactivation by ozone dissolved in aqueous solution: a kinetic study based on bacterial culture lipid unsaturation. *Ozone: scien. engineer*, Ohaio, USA, v. 36, p. 1-8, 2014.

PISARENKO, Aleksev N. et al. Effects of ozone and ozone/peroxide on trace organic contaminants

- and NDMA in drinking water and water reuse applications. *Water Res.*, Amsterdam, v. 46, p. 316-326, 2012.
- PRABAKARAN, Manoj et al. Effect of ozonation on pathogenic bacteria. *Adv. appl. sci. res.*, Coden, USA, v. 3, n. 1, p. 299-302, 2012.
- RIZZON, Fernanda; NODAN, Cristine H.; REIS, Zaida Cristiane. Desafio no gerenciamento de resíduos em serviços públicos de saúde. *Rev. gestão sist. saúde*, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 40-54, 2015.
- SILVA, Carlos A.M.C.; CAMPOS, Juacyara C.; FERREIRA, João A. Caracterização microbiológica de lixiviados gerados por resíduos sólidos domiciliares e de serviços de saúde da cidade do Rio de Janeiro. *Eng. sanit. ambient.*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 127-132, 2011.
- SILVA, Suse B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. *Semina: ciênc. agrárias*, Londrina, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.
- SOUZA, Cristina S. et al. Sterilization with ozone in health care: an integrative literature review. *Rev. esc. enferm. USP*, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 1238-1244, 2011.
- SOUZA, Eduardo L. Contaminação ambiental pelos resíduos de serviço da saúde. *Rev. Fafibe*, Bebedouro, v. 2, n. 2, p.1-8, maio 2006.
- SOUZA, Jeanette B.; DANIEL, Luiz Antonio. Inativação dos microrganismos indicadores *Escherichia coli*, colifagos, e *Clostridium perfringens* empregando ozônio. *Ambiência*, Guarapava, v. 4, n. 2, p. 265-273, 2008.
- TARAN, Vladimir S. et al. Ozonizer with superimposed discharge for inactivation of microorganisms. *Problems Atomic Scien. Technol.*, Ucrânia, v. 17, n. 1, p. 161-163, 2011.
- TRINDADE, Marco A. et al. Comparison of ozone and chlorine in low concentrations as sanitizing agents of chicken carcasses in the water immersion chiller. *J. Food Prot.*, USA, v. 75, p. 1139-1143, 2012.
- WINN, Washington et al. *Koneman: Diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- WU, Dipak et al. Ozonation as an advanced oxidant in treatment of bamboo industry wastewater. *Chemosphere*, Amsterdã, v. 88, p. 1108-1113, 2012.
- Artigo apresentado em: 3/6/2015  
Aprovação em: 13/10/2015  
Versão final apresentada em: 26/10/2015