



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

JOSEFA JANAINA DOS SANTOS ARAÚJO

**AÇÃO DESINFECTANTE DO GÁS OZÔNIO SOBRE OS AEROSSÓIS NA
PRÁTICA ODONTOLÓGICA: ESTUDO PILOTO**

CAMPINA GRANDE

2022

JOSEFA JANAÍNA DOS SANTOS ARAÚJO

**AÇÃO DESINFECTANTE DO GÁS OZÔNIO SOBRE OS AEROSSÓIS NA
PRÁTICA ODONTOLÓGICA: ESTUDO PILOTO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do curso de
Odontologia da Universidade Estadual da
Paraíba como pré-requisito à obtenção do
título de Bacharel em Odontologia.

Área de concentração: Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros

CAMPINA GRANDE

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A663a Araújo, Josefa Janaina dos Santos.
Ação desinfetante do gás ozônio sobre os aerossóis na
prática odontológica [manuscrito] : estudo piloto / Josefa
Janaina dos Santos Araújo. - 2022.
31 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros,
Departamento de Odontologia - CCBS."

1. Ozônio. 2. Clínicas Odontológicas. 3. Microbiologia. I.

Título

21. ed. CDD 617.6

JOSEFA JANAÍNA DOS SANTOS ARAÚJO

AÇÃO DESINFETANTE DO GÁS OZÔNIO SOBRE OS AEROSSÓIS NA PRÁTICA
ODONTOLÓGICA: ESTUDO PILOTO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do curso de
Odontologia da Universidade Estadual da
Paraíba como pré-requisito à obtenção do
título de Bacharel em Odontologia.

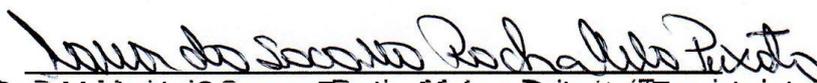
Área de concentração: Saúde.

Aprovada em: 22/07/2022.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Maria do Socorro Rocha Melo e Peixoto (Examinadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Dra. Raquel Christina Barbosa Gomes (Examinadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

A Deus que vem me guiando por toda
minha trajetória e à minha família que
sonhou junto comigo, dedico este
trabalho.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Equipamento gerador de ozônio, modelo OZpro, da marca WIER®.....	15
Figura 2 -	Distribuição das placas de petri pelas 3 áreas pré-determinadas.....	15
Figura 3 -	Distribuição das placas de petri do grupo I.....	16
Figura 4 -	Distribuição das placas de petri dos grupos II e III.....	16
Figura 5 -	Aplicação do O ₃ , com a clínica vazia.....	17
Figura 6 -	Placas armazenadas na estufa bacteriológica.....	17
Figura 7 -	Contagem de UFCs pelo método visual.....	18
Figura 8 -	Análise morfológica.....	18
Figura 9 -	Placas de petri contendo o meio de cultura ASB.....	21
Figura 10 -	Placas de petri contendo o meio de cultura Ágar EMB.....	21
Figura 11 -	Placas de petri contendo o meio de cultura AS.....	22
Figura 12 -	Colônias analisadas sob o microscópio, com coloração de Gram.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Relação entre o tamanho do ambiente e o tempo de funcionamento necessário para promover a desinfecção.....	16
Tabela 2 -	Médias das variáveis analisadas em função dos grupos.....	19
Tabela 3 -	Média das variáveis estudadas em função dos grupos x área.....	20
Tabela 4 -	Média das variáveis em função das áreas.....	21
Tabela 5 -	Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo I.....	22
Tabela 6 -	Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo II.....	23
Tabela 7 -	Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo III.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASD	Ágar sabouraud dextrose
EMB	Eosina Azul de Metileno
UFC	Sistema Integrado de Automação de Bibliotecas.
NBR	Norma Brasileira
EPI	Equipamento de proteção individual
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba

LISTA DE SÍMBOLOS

Hz	Hertz (unidade de medida)
O₃	Gás ozônio (fórmula química)
V	Volt (unidade de medida)
W	Watts (unidade de medida)
%	Porcentagem
®	Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3 METODOLOGIA.....	13
3.1 Tipo de pesquisa.....	13
3.2 Universo.....	13
3.3 Amostra.....	14
3.4.1 Critérios de inclusão.....	14
3.4.2 Critérios de exclusão.....	14
3.5 Instrumentos utilizados.....	14
3.5.1 Material para a coleta.....	14
3.5.2 Aparelho para aplicação do gás ozônio (O ₃).....	14
3.6 Determinação das áreas de exposição das placas de petri.....	15
3.7 Coleta e manejo das amostras.....	15
3.8 Análise microbiológica.....	18
3.9 Análise estatística dos dados.....	19
3.10 Aspectos éticos.....	19
4 RESULTADOS.....	19
5 DISCUSSÃO.....	24
6 CONCLUSÃO.....	26
7 REFERÊNCIAS.....	27
AGRADECIMENTOS.....	31

AÇÃO DESINFECTANTE DO GÁS OZÔNIO SOBRE OS AEROSSÓIS NA PRÁTICA ODONTOLÓGICA: ESTUDO PILOTO

DISINFECTANT ACTION OF OZONE GAS ON AEROSOLS IN DENTAL PRACTICE: PILOT STUDY

Josefa janaína dos Santos Araújo¹
Criseuda Maria Benício Barros²

RESUMO

Esta pesquisa visou analisar a eficácia do gás ozônio (O₃) na desinfecção de ambientes odontológicos. Trata-se de um estudo piloto, do tipo experimental laboratorial realizado em uma clínica escola de odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). A amostra abrangeu 3 grupos: grupo I, coletado antes dos procedimentos odontológicos; grupo II coletado durante os procedimentos e não submetido a nenhum tipo de desinfecção e grupo III coletado juntamente com o grupo II, mas submetido à desinfecção com o O₃. Para a coleta, placas de Petri abertas foram expostas ao ambiente contendo os meios de cultura específicos: Ágar Sangue (AS), Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Estas placas foram distribuídas por 3 áreas pré-determinadas: área A (próxima à corrente de ar do aparelho de ar-condicionado), área B (mesa auxiliar) e área C (bancadas). Após a coleta, as placas foram mantidas em uma estufa bacteriológica a 37°C e a contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) foi feita, bem como análise morfológica com coloração de Gram. O grupo III, submetido ao O₃, apresentou uma redução no número de UFCs, quando comparado ao grupo II. Nas placas contendo AS e EMB, essa redução foi de cerca de 17,30%. Com relação à morfologia, foram observados principalmente cocos gram-negativos nas placas com EMB, cocos gram-positivos nas placas contendo AS e fungos leveduriformes nas placas com ASB. O O₃ então, mostrou ser um método promissor para a redução da quantidade de microorganismos em ambientes clínicos, uma vez que foi possível observar uma redução na contagem de UFCs em placas de petri após sua aplicação.

Palavras-chave: Ozônio. Clínicas Odontológicas. Microbiologia.

ABSTRACT

This research aimed to analyze the effectiveness of ozone gas (O_3) in the disinfection of dental environments. It's a pilot study, of the laboratory experimental type, carried out in a dental school clinic at the State University of Paraíba (UEPB). The sample included 3 groups: group I, collected before the dental procedures started; group II collected during the procedures and not submitted to any type of disinfection and group III collected together with group II, but submitted to disinfection with O_3 . In order to collect the samples, open Petri dishes were exposed to the environment containing the specific culture medium: Blood Agar (SA), Sabouraud Dextrose Agar (ASD) and Eosin Methylene Blue Agar (EMB). These plates were distributed in 3 predetermined areas: area A (near the air stream of the air conditioning unit), area B (auxiliary table) and area C (benches). After collection, the plates were kept in a bacteriological oven at $37^\circ C$ and colony forming units (CFUs) were counted, as well as morphological analysis with Gram stain. Group III, submitted to O_3 , showed a reduction in the number of CFUs, when compared to group II. In plates containing AS and EMB, this reduction was around 17.30%. Regarding the morphology, gram-negative cocci were mainly observed in the EMB plates, gram-positive cocci in the plates containing AS and yeast fungi in the plates with ASB. In conclusion, the O_3 showed to be a promising method for reducing the amount of microorganisms in clinical environments, since it was possible to observe a reduction in the count of CFUs in petri dishes after its application.

Keywords: Ozone. Dental Clinics. Microbiology

1 INTRODUÇÃO

Durante a prática clínica, o cirurgião-dentista se expõe a significativo risco biológico, tendo em vista a existência do constante contato com sangue, saliva e secreção respiratória dos pacientes (GE *et al.*, 2020). Além disso, nos procedimentos em que há necessidade de uso da caneta de alta rotação, a fricção entre o tecido duro (dente ou osso) e a ponta ativa da fresa gera um calor excessivo que pode ser prejudicial aos tecidos do paciente. Sendo assim, para prevenir esse calor excessivo, é necessário que haja refrigeração do campo operatório com água (FARAH, 2018).

No entanto, essa refrigeração tem como consequência a geração de aerossóis que, combinados com fluidos corporais tais como sangue e saliva, resultam na formação de bioaerossóis que estão comumente contaminados com bactérias, fungos e vírus e podem ficar suspensos no ar por tempo considerável (KUTTER *et al.*, 2018). Os bioaerossóis têm diferentes perfis microbiológicos dependendo do ambiente e de como são gerados (ZEMOURI, 2017).

Ademais, com o surgimento da COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, o novo coronavírus, houve a necessidade de realizar alterações nas normas de biossegurança para a execução dos procedimentos, em razão do alto risco de contaminação e transmissão do vírus no ambiente odontológico (MUNSTER *et al.*, 2020). A disseminação do vírus se dá facilmente por gotículas e aerossóis, resultando em um alto risco de contaminação cruzada durante os procedimentos odontológicos (CHAN *et al.*, 2020). Também foi observado que mesmo sob condições ideais para manutenção preventiva, as chances de exposição aos bioaerossóis persistem. Portanto, muitas medidas de biossegurança devem ser tomadas para minimizar tais riscos (KIM; KABIR; JAHAN, 2018).

Neste contexto, o uso de desinfetantes para limpeza e desinfecção de ambientes de saúde é uma prática padrão e inclui agentes como formaldeído, ácido peracético ou clorexidina, hipoclorito de sódio e formulações isoladas ou combinadas com peróxido de hidrogênio (SATO *et al.*, 2019). Não obstante, muitos dos métodos utilizados para este fim, têm desvantagens como o impacto ambiental, toxicidade à saúde humana e prática laboral de preparo e possibilidade de seleção dos micro-organismos, como resposta ao uso indiscriminado e com consequente aumento da tolerância ou resistência adquirida, além da imensa variedade de espécies de bactérias (WEST *et al.*, 2018).

Métodos alternativos de desinfecção, como tecnologias de desinfetantes gasosos, foram recentemente introduzidos no mercado. Nesse cenário, o O₃ surge como uma alternativa promissora, uma vez que possui maior capacidade desinfetante do que um desinfetante líquido, devido à sua distribuição e penetração uniformes mesmo em superfícies complexas com áreas de difícil acesso (MARTINELLI *et al.*, 2017). Em relação ao novo coronavírus, SARS-CoV-2, Martins *et al.* (2020) encontraram uma redução significativa do potencial infectante do vírus após sua exposição a água ozonizada por 1 minuto, sugerindo seu uso para desinfecção de superfícies, lavagem de EPIs em hospitais e laboratórios. A alta capacidade oxidante do O₃ pode inativar e destruir o SARS-COV-2, atuando nas proteínas e lipídios que formam a estrutura do vírus e nas proteínas responsáveis pelo início da infecção no corpo humano (TIZAOU, 2020).

Outros importantes aspectos a serem observados são a aplicabilidade do O₃ e o seu impacto no ambiente. A esterilização por O₃ é relatada como um método verde

de baixo custo, que pode ser aplicada em materiais termossensíveis e que não deixa resíduos tóxicos, pois o O_3 é uma forma alotrópica formada por três átomos de oxigênio, de modo que pode ser espontaneamente decomposto em gás oxigênio (O_2) após um curto período de tempo (GALANTE *et al.*, 2017). Ainda que o O_3 tenha um grau de toxicidade para olhos e trato respiratório, os riscos de seu uso podem ser evitados com a ausência de indivíduos no ambiente no mesmo momento da desinfecção.

A desinfecção de ambientes com O_3 tem se mostrado uma alternativa cada vez mais viável, segura e com ótimo custo-benefício para os processos de desinfecção e esterilização de superfícies relacionadas com o trabalho em saúde (CAETANO *et al.*, 2021). No entanto, percebe-se que muitos estudos ainda são necessários para melhor entender as possibilidades e limitações do O_3 , bem como para o desenvolvimento de um protocolo de uso que seja acessível para o dia-a-dia na prática clínica odontológica, justificando a realização da presente pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Analisar a eficácia da utilização do gás ozônio (O_3) na desinfecção de ambientes odontológicos

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar a influência do O_3 sobre o crescimento de microrganismos em placas de Petri expostas ao ar durante os procedimentos odontológicos;
- Identificar a quantidade de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) nos ensaios microbiológicos das amostras coletadas, antes e durante a realização de procedimentos odontológicos, bem após a aplicação do O_3 ;
- Diferenciar os tipos morfológicos de colônias formadas;
- Verificar a dispersão dos Bioaerossóis na clínica odontológica.

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de pesquisa

Estudo piloto, do tipo experimental laboratorial com análise quantitativa e qualitativa dos dados.

3.2 Universo

O universo deste estudo piloto abrange uma clínica escola do departamento de odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, localizado no Campus I, na cidade de Campina Grande - PB.

3.3 Amostra

- A amostra foi composta por 108 placas de Petri, divididas em 3 grupos:
- Grupo I: 36 culturas foram coletadas antes do início dos procedimentos odontológicos, distribuídas por 3 áreas pré-definidas;
 - Grupo II: 36 culturas de controle, coletadas durante os procedimentos odontológicos, distribuídas por 3 áreas pré-determinadas
 - Grupo III: 36 culturas de teste, coletadas durante os procedimentos, que foram submetidas à sanitização com O₃ na desinfecção de ambientes.

3.4 Critérios de inclusão e de exclusão

3.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas nesse estudo amostras coletadas antes, durante e após as atividades cotidianas realizadas em uma clínica escola do departamento de odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, localizado no Campus I, na cidade de Campina Grande - PB.

3.4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos deste estudo piloto, processos de coleta de amostras em ambientes onde não são realizados procedimentos clínicos odontológicos e em áreas onde não seria possível posicionar as placas sem interferir nas atividades da clínica.

3.5 Instrumentos utilizados

3.5.1 Material para a coleta

O processo de coleta dos materiais para a análise microbiológica foi realizado por meio de placas de Petri estéreis, com meios de cultura específicos: Ágar Sangue (AS), meio utilizado para identificar um amplo espectro de espécies bacterianas gram-negativas e gram-positivas que destroem hemáceas; Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), que é um meio seletivo para isolamento de bactérias entéricas gram-negativas e Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) que com um PH de 5,6, é utilizado para isolar os fungos, inibindo o crescimento de diversas espécies bacterianas (KUN *et al.*, 2018; TORTORA; CASE; FUNKE, 2012)). Em cada grupo, foram expostas 12 placas com AS, 12 placas com ASD e 12 placas com EMB, distribuídas igualmente em 3 áreas pré-determinadas, totalizando uma amostra de 108 placas de Petri.

3.5.2 Aparelho para aplicação do gás ozônio (O₃)

O O₃ foi obtido por um equipamento gerador de ozônio, modelo OZpro, da marca WIER®. Apresentando a potência de 100 W, frequência de 50/60 Hz, temporizador de 10-60 minutos, tensão de 110/220 V e peso de 4,2kg.

Figura 1. Equipamento gerador de ozônio, modelo OZpro, da marca WIER®



Fonte: Autoria própria.

3.6 Determinação das áreas de exposição das placas de petri

Três áreas foram pré-definidas para a disposição das placas de Petri: Área A (próxima à corrente de ar do aparelho de ar-condicionado) Área B (mesa auxiliar) Área C (bancadas)

Figura 2. Distribuição das placas de Petri pelas 3 áreas pré-determinadas: área A, área B e área C.



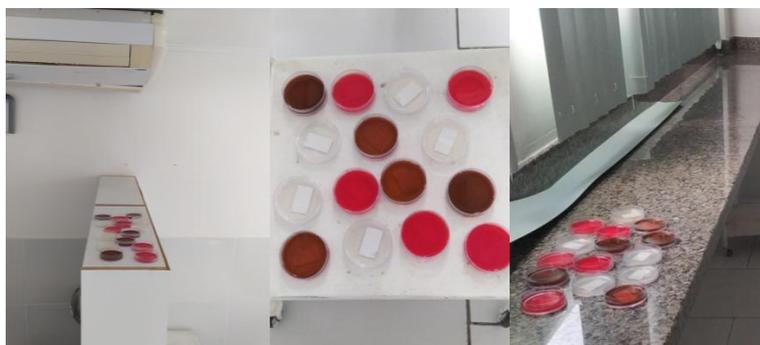
Fonte: Autoria própria.

3.7 Coleta e manejo das amostras

As amostras foram coletadas a partir da exposição de placas de Petri abertas e estéreis contendo os meios de cultura específicos: Ágar Sangue (AS), Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Em cada grupo, foram expostas 12 placas com AS, 12 placas com ASD e 12 placas com EMB, distribuídas igualmente nas áreas pré-determinadas, onde permaneceram por 1 hora e 30 minutos.

Inicialmente foram coletadas as amostras do grupo I, antes da realização dos procedimentos e após a limpeza e desinfecção habitual da clínica, feita no dia anterior. Após passada 1h30min, as placas foram seladas e acondicionadas ainda antes do início das atividades. As culturas dos grupos II e III, foram expostas simultaneamente nas áreas pré-determinadas após o início das atividades, permanecendo por cerca de 1h30min.

Figura 3. Distribuição das placas de Petri do grupo I.



Fonte: Autoria própria.

Figura 4. Distribuição das placas de Petri dos grupos II e III.



Fonte: Autoria própria.

Passado o tempo determinado, as amostras do grupo II foram recolhidas e acondicionadas e as amostras do grupo III permaneceram no local para serem submetidas à desinfecção com o O_3 , feita após o fim das atividades quando não havia pessoas na clínica. Inicialmente, foi identificado se o seletor de tensão 110/220V se apresentava de acordo com a tensão da rede fornecida na clínica onde seria feita a aplicação. Em seguida foi feita a determinação do tempo de aplicação, de acordo com as informações fornecidas pelo manual do aparelho, onde consta uma tabela que relaciona o tamanho do ambiente com a quantidade de tempo necessária para a desinfecção, como na seguinte tabela:

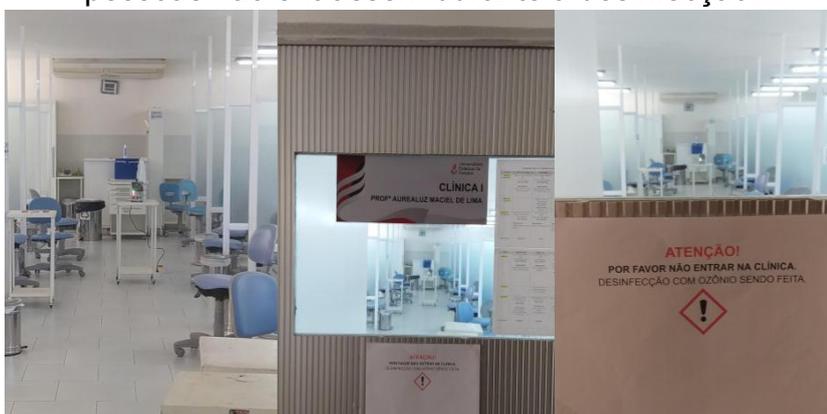
Tabela 1. Relação entre o tamanho do ambiente e o tempo de funcionamento necessário para promover a desinfecção.

Até 25 m ²	15 minutos ou conforme necessidade
25 m ² à 40 m ²	30 minutos ou conforme necessidade
40 m ² à 70 m ²	60 minutos ou conforme necessidade

Com um cálculo de regra de três, determinou-se o tempo de 1h40min para o tamanho da clínica. Como o temporizador do aparelho permite no máximo 60 minutos por aplicação, para este estudo, foram feitas duas aplicações em sequência: uma primeira de 60 min e outra de 40 min, imediatamente após a primeira aplicação.

Portas e janelas foram fechadas e apenas uma pessoa, utilizando equipamento de proteção individual, entrou para configurar e ligar o aparelho, saindo imediatamente em seguida. O gerador de O₃ foi posicionado a uma altura de cerca de um metro do piso, na área central da clínica e a sinalização do ambiente foi realizada a fim de impedir a entrada de pessoas. Posteriormente, dado o tempo de aplicação, as portas e janelas da clínica foram abertas para promover a ventilação do ambiente e eliminação do O₃ residual, respeitando o tempo mínimo de 30 minutos de arejamento para a utilização do ambiente. Todas as informações descritas acerca do funcionamento do gerador de Ozônio OZpro da marca Wier® foram fornecidas pelo fabricante, no manual do aparelho.

Figura 5. Aplicação do O₃ com a clínica vazia. A clínica foi sinalizada para que as pessoas não entrassem durante a desinfecção.



Fonte: Autoria própria.

Uma vez feita a desinfecção, as amostras foram recolhidas e acondicionadas para serem enviadas de imediato ao Laboratório de Análises Clínicas do CCBS - UEPB, CAMPUS I. Vale ressaltar que as coletas de todos os grupos foram feitas na mesma manhã. O processo de incubação foi realizado em uma estufa bacteriológica a uma temperatura de 37°C, pelo período de 24 horas para as placas com AS e EMB e de 48 horas para as placas com ASD. Após o período de incubação, foi realizada a contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs).

Figura 6. Placas de Petri armazenadas na estufa bacteriológica.

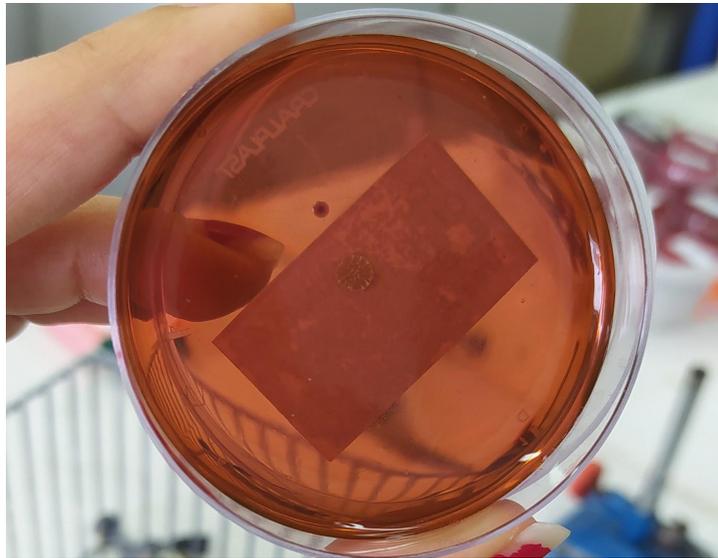


Fonte: Autoria própria

3.8 Análise microbiológica

Após passadas 24 horas de incubação, foi feita a contagem de UFCs das placas contendo os meios de cultura AS e EMB, uma vez que nesse período de tempo já foi possível observar o crescimento de colônias. Após 48 horas de incubação, as UFCs observadas nas placas contendo ASD foram contadas. A contagem foi feita pelo método visual. Após isso, realizou-se a identificação morfológica das colônias através do método visual com coloração gram (GEMELLI, 2020). Os dados obtidos foram registrados e catalogados em fichas para então serem submetidos à análise estatística.

Figura 7. Contagem de UFCs pelo método visual. Na imagem, placa de Petri contendo EMB, com 6 UFCs.



Fonte: Autoria Própria

Figura 8. À esquerda, preparação das lâminas para a análise morfológica das UFCs. À direita, análise sendo feita no microscópio.



Fonte: Autoria Própria

3.9 Análise estatística dos dados

Os resultados das contagens foram logaritmizados e analisados através de Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tuckey ($p < 0,05$) para a comparação de médias (GOMES, 1978), a fim de obter informações sobre a disseminação de bioaerossóis durante os procedimentos odontológicos, nível de crescimento microbiano nas amostras coletadas, bem como analisar o grau de eficácia do O_3 na desinfecção de ambientes. Os dados foram rodados no programa SAS (2001).

3.10 Aspectos éticos

Seguindo os preceitos da Resolução n.º 466 de 2012 do CNS, a qual regulamenta a ética da pesquisa que envolve seres humanos no Brasil, o presente estudo não precisou ser submetido a um Comitê de Ética em Pesquisa, pois se trata de uma pesquisa apenas laboratorial.

4 RESULTADOS

Contagem de unidades formadoras de colônias

Os meios de cultura ágar EMB ($p = 0,0018$), AS ($p < 0,001$) e ASD ($p < 0,001$) apresentaram diferença significativa em função dos grupos estudados (Tabela 1). O EMB apresentou maior valor no segundo grupo e nos grupos I e III esse valor foi menor e estatisticamente semelhante. Com relação ao AS observa-se que os grupos II e III apresentaram maiores valores e o grupo I menor valor, houve um aumento de quase 95% do Grupo I para o dois, e do grupo II para o III uma redução de 17,30%. Já o ASD apresentou maior valor também para os grupos II e III e menor valor no grupo I, ocorreu um aumento de 82% do grupo I para o II, e uma redução de 13,83% do grupo II para o III. Observa-se que os maiores valores são do grupo II e III com exceção do ágar EMB que foi maior só no grupo II.

Tabela 2. Médias das variáveis analisadas em função dos grupos

Meios de cultura	Grupo			Valor de p
	I	II	III	
EMB	0,33±0,49b	2,83±2,69a	0,67±1,07b	0,0018
AS	0,75±0,86b	14,91±4,50a	12,33±9,1a	<.0001
ASD	1,16±0,83b	6,58±2,23a	5,67±2,61a	<.0001

Letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Fonte:** Autoria própria

Tabela 3. Média das variáveis estudadas em função dos grupos x área

Grupo	Área	EMB	AS	ASD
I	A	0,25±0,50bD	0,25±0,50bD	0,50±0,58cD
I	B	0,50±0,58 ^a D	1,50±1,00aC	1,75±0,50 ^a C
I	C	0,25±0,50bD	0,50±0,58bD	1,25±0,96bC
II	A	0,25±0,50cD	16,00±2,94 ^a A	6,50±1,29 ^a A
II	B	5,75±1,26 ^a A	18,25±3,77 ^a A	7,75±1,89 ^a A
II	C	2,50±2,08bB	10,50±3,00bB	5,50±3,11bB
III	A	0,50±1,00bD	4,50±7,72cB	5,75±2,75bB
III	B	1,50±1,29 ^a C	18,50±5,44 ^a A	7,25±2,06 ^a A
III	C	0,00±0,00cE	14,00±8,98bA	4,00±2,44bB
Valor de p				
Grupo		<.0001	<.0001	<.0001
Área		<.0001	0,0151	0,0535
Grupo*área		0.0003	0,0198	0,6444

Letras minúsculas na coluna diferem entre si dentro do grupo e letras maiúsculas diferem entre si entre os grupos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Fonte:** Autoria própria. **Fonte:** Autoria própria.

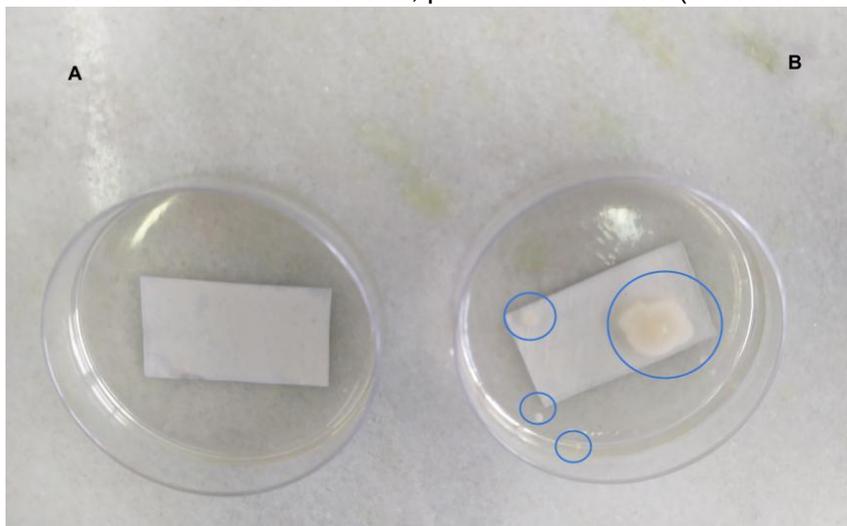
Com relação ao EMB observa-se que o grupo II área B foi o que apresentou maior valor, seguido do grupo II área C. Com relação ao AS, observa-se que o maior valor está no grupo II área A e B e no grupo III área B e C, seguido do grupo II área C e grupo III área C mostrando-se estatisticamente semelhantes. Já o ASD apresentou efeito para grupo o que já foi apresentado na Tabela 1 e na Tabela 3.

Com relação às áreas observam-se que não houve efeito significativo para AS ($p=0,2175$) e ASB ($p=0,2841$), mas o EMB apresentou efeito significativo ($p=0,0120$). O maior valor para EMB foi na área B e nas demais áreas valores menores. Da área A para a B observa-se um aumento de 87%, como também da área C para a B tem-se um aumento de 64%

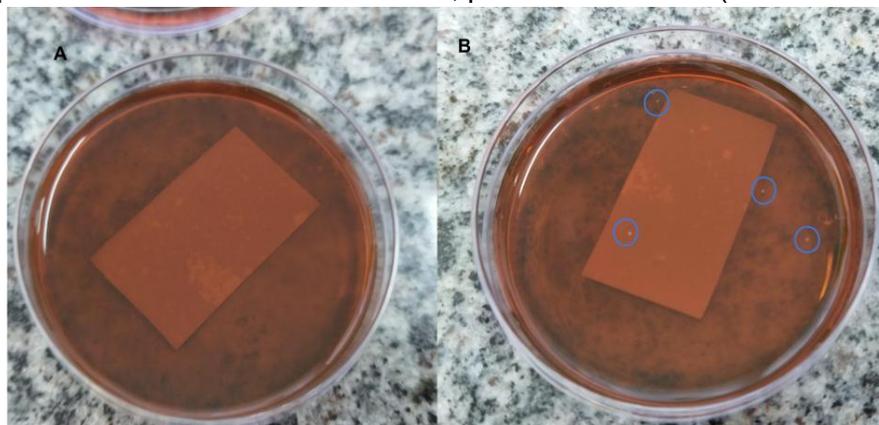
Tabela 4. Média das variáveis em função das áreas

Variáveis	Área			Valor de p
	A	B	C	
EMB	0,33±0,65b	2,58±2,57a	0,92±1,62b	0,0120
Sangue	6,92±8,18b	12,75±9,01a	8,33±7,76ab	0,2175
ASD	4,25±3,22ab	5,58±3,20a	3,58±2,81b	0,2841

Letras diferentes na linha diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Fonte:** Autoria própria.

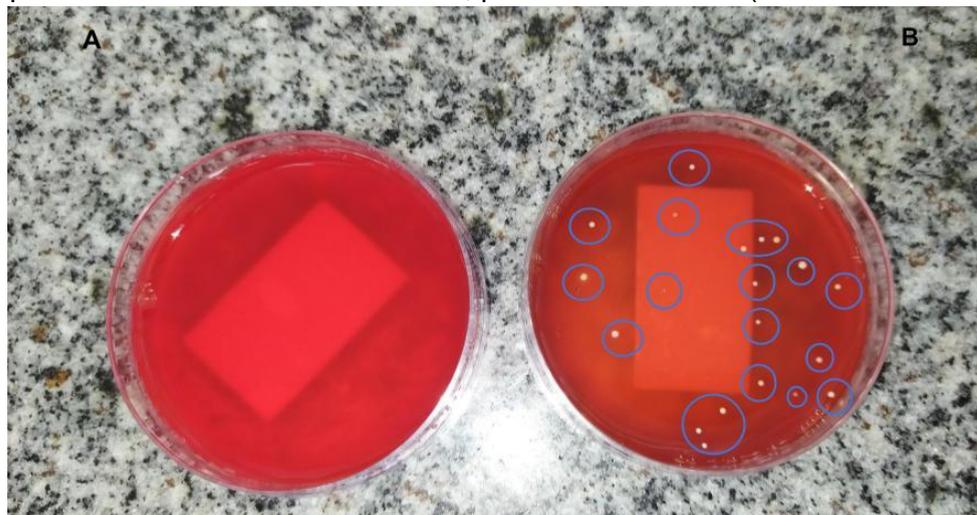
Figura 9. Placas de Petri contendo o meio de cultura ASD. À esquerda, placa que não apresentou nenhuma UFC. À direita, placa com 4 UFCs (circulada em azul)

Fonte: Autoria própria.

Figura 10. Placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar EMB. À esquerda, placa que não apresentou nenhuma UFC. À direita, placa com 4 UFCs (circulada em azul).

Fonte: Autoria própria.

Figura 11. Placas de Petri contendo o meio de cultura AS. À esquerda, placa que não apresentou nenhuma UFC. À direita, placa com 20 UFCs (circulada em azul).



Fonte: Autoria Própria.

Análise da morfologia das colônias

Grupo I

No grupo I, com relação às placas com o meio seletivo EMB, foi possível observar o aparecimento de cocos gram-negativos, tanto na área A como na área B. Já nas placas expostas na área C deste grupo, foram encontrados bacilos gram-negativos. As placas com o meio AS apresentaram colônias de cocos gram-positivos para às áreas A e C, já na área B foi possível observar o crescimento de fungos leveduriformes. Para o meio ASD, em todas as áreas, as colônias encontradas eram formadas por fungos leveduriformes.

Tabela 5. Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo I

	EMB	Sangue	ASD
Área A	Cocos gram-negativos	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes
Área B	Cocos gram-negativos	Fungos leveduriformes	Fungos leveduriformes
Área C	Bacilos gram-negativos	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes

Fonte: Autoria própria.

Grupo II

Assim como no grupo I, a morfologia das colônias encontradas nas placas com sabouraud, em todas as áreas do grupo II, foi de fungos leveduriformes. Para o meio AS, a morfologia encontrada em todas as áreas foi a de cocos gram-positivos. Na área A desse mesmo grupo, foi possível observar a formação de colônias de fungos leveduriformes, enquanto nas áreas B e C, a morfologia observada foi de cocos gram-negativos.

Tabela 6. Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo II

	EMB	Sangue	ASD
Área A	Fungos leveduriformes	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes
Área B	Cocos gram-negativos	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes
Área C	Cocos gram-negativos	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes

Fonte: Autoria própria.

Grupo III

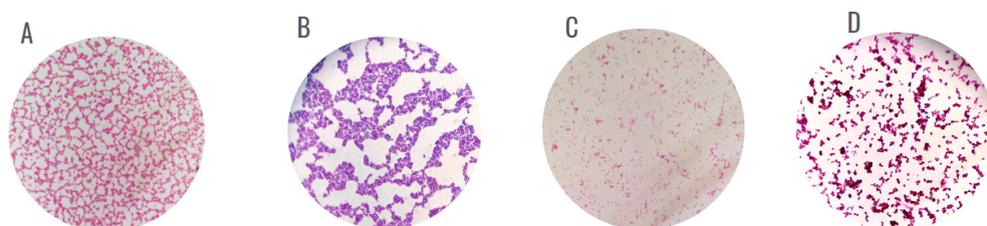
No tocante ao grupo III, observou-se um crescimento de bacilos gram-negativos em placas contendo AS da área B, o que também foi observado na área A para placas contendo ágar EMB. Ainda nas placas contendo AS, observou-se cocos gram-positivos nas áreas A e C deste mesmo grupo. As placas contendo EMB dispostas na área B, formaram colônias de cocos gram-negativos e na área C, nenhuma UFC foi observada. Nas placas contendo ASD, em todas as áreas, as colônias encontradas eram formadas por fungos leveduriformes.

Tabela 7. Morfologia das UFCs encontradas em cada meio de cultura e em cada área do grupo III

	EMB	Sangue	ASD
Área A	Bacilos gram-negativos	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes
Área B	Cocos gram-negativos	Bacilos gram-negativos	Fungos leveduriformes
Área C	-	Cocos gram-positivos	Fungos leveduriformes

Fonte: Autoria própria.

Figura 12. Colônias analisadas sob o microscópio óptico, com coloração de Gram. **A)** Cocos gram-negativos observados em uma amostra retirada de uma placa do grupo I/área A, contendo ágar EMB; **B)** Cocos gram-positivos observados em uma amostra retirada de uma placa do grupo I/área A contendo ágar sangue; **C)** Bacilos gram-negativos observados em uma amostra retirada de uma placa do grupo III/área A contendo ágar EMB; **D)** Fungos leveduriformes observados em uma amostra retirada de uma placa do grupo III/área A contendo ASD.



Fonte: Autoria própria.

5 DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou efeito significativo do O₃ como inibidor do crescimento microbiano no ambiente clínico, conforme indicado pela contagem de UFCs. Do grupo II (não exposto ao O₃) para o grupo III (exposto ao O₃) houve redução de 17,30% na contagem das UFCs nas placas com AS, o que ocorreu de forma estatisticamente semelhante com as placas contendo ágar EMB. Nas placas contendo ASD, houve uma redução de 13,83% na contagem total de UFCs. Isso demonstra o efeito do O₃ como agente desinfectante no combate a microrganismos dispersos pelos aerossóis durante a prática clínica odontológica. De toda a amostra, o grupo I apresentou a menor contagem de UFCs.

Não obstante, ressalta-se a influência dos fatores espaciais nos efeitos do O₃, como a distância entre as placas e a saída de O₃, e das condições do local da pesquisa. Isso porque o aparelho gerador O₃ foi posicionado no centro da clínica, a qual possui biombos, armários e outras interferências que podem ter dificultado o alcance do gás em algumas placas. Um estudo realizado por WOOD *et al.* (2020), avaliou o uso do O₃ para a inativação de esporos de *Bacillus anthracis* e *Bacillus subtilis* em materiais de construção. Os resultados mostraram que a concentração de ozônio, tempo de contato e umidade relativa do ar influenciaram a eficácia da descontaminação.

Dito isto, os resultados obtidos no presente estudo corroboram com o que já se sabe sobre a utilização do O₃ como método de desinfecção e expande o conhecimento acerca do assunto, uma vez que possibilitou analisar a ação do gás em microorganismos selecionados a partir dos 3 diferentes meios de cultura utilizados para a coleta. Com exceção do grupo I, o qual apresentou um maior número de UFCs nas placas contendo ASD, foi observado que as placas contendo AS apresentaram a maior contagem de UFC. Tal fenômeno pode ter se dado em decorrência do próprio meio de cultura, uma vez que o AS é um meio que permite o crescimento de um maior espectro de espécies bacterianas, quando comparado ao ágar EMB e ao ASD (TORTORA; CASE; FUNKE, 2012).

O uso de diferentes meios de cultura indicou a importância das condições de crescimento encontradas, uma vez que houve diferença significativa na formação de colônias entre os meios EMB, AS e ASD. Nas placas com ágar EMB observou-se colônias de cocos gram-negativos em todos os grupos. Desse modo, a redução de cerca de 17% na contagem de UFCs para esta variável, observada do grupo II para o grupo III, aponta para a eficácia do O₃ como agente desinfectante sobre as bactérias do grupo dos cocos gram-negativos. Fenômeno semelhante ocorreu nas placas contendo AS, nas quais foram observadas principalmente cocos gram-positivos.

Os efeitos do O₃ sob algumas bactérias dos grupos supracitados já vêm sendo demonstrados na literatura. Um estudo publicado em agosto de 2020 elucidou o efeito bactericida do ozônio para células de *Staphylococcus aureus*, bactéria do grupo dos cocos-gram positivos, após 30 min de tratamento (TARAN *et al.*, 2020). Um outro estudo, aplicado em 2021, avaliou a concentração mínima de O₃ necessária para controlar e matar um conjunto de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas sensíveis ou multirresistentes. Nenhuma redução na contagem de colônias foi detectada após a exposição ao O₃ em comparação com o grupo controle. No entanto, a viabilidade celular das bactérias *E. coli*, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* foi consideravelmente reduzida (RANGEL *et al.*, 2021).

A respeito dos efeitos do O₃ em fungos, os estudos feitos em ambientes de cuidado à saúde ainda são escassos. Contudo, numerosos estudos indicaram que o O₃ pode reduzir o nível de micotoxinas nos alimentos, embora existam variações notáveis nos tempos de exposição e nas taxas de dose. Em geral, níveis mais altos de concentração do gás são necessários para a redução de micotoxinas do que os necessários para suprimir o crescimento de fungos produtores de micotoxinas (AFSAH-HEJRI; HAJEB; EHSANI, 2020).

No presente estudo, o O₃ foi capaz de reduzir em até 13,83% a contagem de UFCs nas placas contendo ASD, as quais apresentaram crescimento de fungos filamentosos. Tal taxa de redução foi menor que a observada nas placas contendo AS e ágar EMB. Isto pode indicar uma maior resistência de certos fungos à desinfecção com O₃, quando comparados a certas bactérias, como as dos grupos analisados neste estudo. Todavia, mais pesquisas são necessárias para de fato compreender os efeitos da desinfecção com o O₃ sobre fungos.

Adicionalmente, no que se refere ao crescimento de colônias, o grupo II apresentou a maior contagem de UFCs para todos os meios de cultura, o que aponta para uma alta no número de microorganismos dispersos no ar durante os procedimentos realizados na clínica. Foram observadas diferenças também entre as áreas onde as placas foram expostas, especialmente em relação à distância do local de realização dos procedimentos odontológicos. Desse modo, a área B (mesa auxiliar) mostrou contagem de UFC elevada em todos os grupos estudados, efeito que pode ser explicado por se tratar da área de amostragem mais próxima ao local de realização dos procedimentos clínicos.

Tais dados reforçam, ainda, que a maioria dos microrganismos formadores de colônia nas amostras do estudo são, de fato, oriundos dos procedimentos clínicos e não dispersos por outras fontes ou agentes. Estudos já demonstraram haver um alto nível de risco biológico em consultórios odontológicos durante os procedimentos (NOORDIEN; MULDER-VAN STADEN; MULDER, 2021). Em razão da natureza única da odontologia, a maioria dos procedimentos gera quantidades significativas de bioaerossóis, apresentando riscos potenciais de transmissão de infecções (GE *et al.* 2020).

Devido sua capacidade ampla de inativação de bactérias e vírus, o O₃ tem se mostrado uma alternativa promissora no combate a microrganismos patogênicos em diversas áreas e vem sendo estudado e utilizado no tratamento de água por cerca de um século (MORRISON *et al.*, 2022). A ozonioterapia também tem se mostrado um método eficaz para combater microrganismos em tecidos biológicos, inclusive como uma alternativa para assepsia de canais radiculares em tratamentos endodônticos (SILVA *et al.*, 2020). Ademais, um estudo demonstrou que o O₃ diminui a infectividade do vírus SARS-CoV-2 em uma ampla gama de concentrações e tempos de exposição, com 99% de redução registrada após 30 minutos de exposição, sugerindo que o O₃ é um desinfetante eficaz para o vírus, com alto potencial para superar a baixa acessibilidade de desinfetantes líquidos comumente aplicados. (ZUCKER *et al.*, 2021).

Outrossim, MOCCIA *et al.* (2020) relatam, sobre a utilização do O₃, vantagens como garantia da redução e completa inativação dos microrganismos aerotransportados evitando a posterior deposição nas superfícies, mas ressalta que os procedimentos de limpeza com detergentes são uma etapa obrigatória antes de qualquer tratamento para remover completamente a matéria orgânica em superfícies. No presente estudo, a aplicação do O₃ foi feita sem a limpeza habitual

da clínica após os procedimentos, a fim de melhor avaliar sua eficácia na redução de UFC's, sem a interferência de outros métodos de limpeza.

Deste modo, o ambiente desempenha um papel efetivo na transmissão de infecções, não só através do ar, mas também das superfícies que muitas vezes acabam sendo um reservatório secundário de micro-organismos. Se faz necessário o desenvolvimento de métodos eficazes de limpeza e desinfecção de ambientes de saúde, principalmente aqueles em que há geração de aerossóis (FURLAN *et al.*, 2019). Neste sentido, caracteriza-se a importância desta pesquisa como protótipo para a avaliação da ação microbiológica em três tempos de investigação: grupo I, horas após a limpeza habitual do ambiente e antes do início das atividades da clínica; grupo II, durante os procedimentos e não exposto a nenhum tipo de desinfecção e grupo III, exposto durante os procedimentos, mas também submetido à desinfecção com O₃.

6 CONCLUSÃO

A utilização do O₃ como desinfectante em ambientes odontológicos é um método promissor, uma vez que foi possível observar uma redução na contagem de UFCs em placas de petri após sua aplicação, mostrando seu efeito em diferentes espécies de bactérias e de fungos leveduriformes. Além disso, a desinfecção com o O₃ se configura como um método prático e rápido, que não oferece riscos à saúde humana, desde que o protocolo de uso seja seguido à risca. Vale ressaltar também, que houve um aumento significativo na contagem de UFCs durante os atendimentos, o que sugere que há uma maior dispersão de bioaerossóis na clínica enquanto os procedimentos estão sendo realizados. Ademais, mais estudos são necessários para melhor compreender a ação do O₃ sobre os diferentes tipos de microrganismos, especialmente fungos.

7 REFERÊNCIAS

- AFSAH-HEJRI, L., HAJEB, P., EHSANI, R. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.19, n.4, p. 1777-1808, 2020.
- AL-AMAD, S.H., et al. The effect of rubber dam on atmospheric bacterial aerosols during restorative dentistry. **Journal of infection and public health**, v. 10, n. 2, p. 195-200, 2017.
- ALMEIDA, T.S.B., et al. Evaluating the potential, applicability, and effectiveness of ozone sterilization process for medical devices. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 13, n. 2, p. 87-94, 2018.
- ALZAIN, S. Effect of chemical, microwave irradiation, steam autoclave, ultraviolet light radiation, ozone and electrolyzed oxidizing water disinfection on properties of impression materials: A systematic review and meta-analysis study. **The Saudi dental journal**, v.32, n.4, p.161-170, 2020.
- CAETANO, M.H., et al. Ação antimicrobiana do gás ozônio em superfícies e na aeromicrobiota. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 34, 2021.
- CHAN, J.F.W., et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514-523, 2020.
- FARAH, Ra'fat I. Effect of cooling water temperature on the temperature changes in pulp chamber and at handpiece head during high-speed tooth preparation. **Restorative dentistry & endodontics**, v. 44, n. 1, p. e3-e3, 2018.
- FURLAN, M.C.R. et al. Evaluation of disinfection of surfaces at an outpatient unit before and after an intervention program. **BMC infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 1-8, 2019.
- GALANTE, R. et al. Sterilization of silicone-based hydrogels for biomedical application using ozone gas: Comparison with conventional techniques. **Materials Science and Engineering**, v. 78, p. 389-397, 2017.
- GE, Z. Y., YANG, L. M., XIA, J. J., FU, X. H., ZHANG, Y. Z. Possible aerosol transmission of COVID-19 and special precautions in dentistry. **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B**, v.21, n.5, p. 361-368, 2020.
- GEMELLI, T. Manual prático de Microbiologia clínica. Unisinos, 2020.
- KIM, K.H., KABIR, E., JAHAN, S.A. Airborne bioaerosols and their impact on human health. **Journal of Environmental Sciences**, v. 67, p. 23-35, 2018.
- KOBZA, J., PASTUSZKA, J S., BRAGOSZEWSKA, E. Do exposures to aerosols pose a risk to dental professionals? **Occupational Medicine**, v. 68, n. 7, p. 454-458, 2018
- KUHN, C.R. et al. Contaminação Microbiana em Consultórios Odontológicos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 4, p. 315-324, 2018.

KUTTER, Jasmin S. et al. Transmission routes of respiratory viruses among humans. *Current opinion in virology*, v. 28, p. 142-151, 2018.

MARTINELLI, M. et al. Water and air ozone treatment as an alternative sanitizing technology. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 58, n. 1, p. E48, 2017.

MARTINS, R.B. et al. SARS-CoV-2 Inactivation by Ozonated Water: A Preliminary Alternative for Environmental Disinfection. **Ozone: Science & Engineering**, p. 1-4, 2020.

MOCCIA, G. et al. Development and Improvement of an Effective Method for Air and Surfaces Disinfection with Ozone Gas as a Decontaminating Agent. **Medicina**, v. 56, n. 11, p. 578, 2020.

MORETTE, D.A. **Principais Aplicações Terapêuticas da Ozonioterapia**. 19 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

MORRISON, C. M., HOGARD, S., PEARCE, R., GERRITY, D., VON GUNTEN, U., WERT, E. C. Ozone disinfection of waterborne pathogens and their surrogates: A critical review. **Water Research**, 118206, 2022.

MUNSTER, V.J. et al. A Novel Coronavirus Emerging in China — Key Questions for Impact Assessment. **New England Journal Of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 692-694, 2020.

MURRAY, K. et al. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on and within Apples Destined for Caramel Apple Production by Using Sequential Forced Air Ozone Gas Followed by a Continuous Advanced Oxidative Process Treatment. **Journal Of Food Protection**, v. 81, n. 3, p. 357-364, 2018.

NIU et al. Long-term Ozone Exposure and Small Airway Dysfunction: The China Pulmonary Health (CPH) Study. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [s. l.], 2022.

NOORDIEN, N., MULDER-VAN STADEN, S., MULDER, R. In vivo study of aerosol, droplets and splatter reduction in dentistry. **Viruses**, v.13, n.10, p. 1928, 2021.

PONCE, A.R, et al. Características físico-químicas e microbiológicas de morango minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 113-118, 2010.

RAMICH, Tatjana; EICKHOLZ, Peter; WICKER, Sabine. Work-related infections in dentistry: risk perception and preventive measures. **Clinical oral investigations**, v. 21, n. 8, p. 2473-2479, 2017.

RANGEL, K., CABRAL, F. O., LECHUGA, G. C., CARVALHO, J. P., VILLAS-BÔAS, M. H., MIDDLEJ, V., DE-SIMONE, S. G. Detrimental effect of ozone on pathogenic bacteria. **Microorganisms**, v.10, n.1, p. 40, 2021.

SACCUCCI, M. et al. How to manage the biological risk in a dental clinic: current and future perspectives. **Minerva stomatologica**, v. 66, n. 5, p. 232-239, 2017.

SALVATORI, R.U. et al. Laboratório de microbiologia: normas gerais, instruções de trabalho e Procedimentos Operacionais Padrões (POP). **Lajeado: Editora Univates**, 2013. 73 p.

SANTOS, R.R. et al. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, [s.l.], v. 20, n. 3, p. 230-235, 2016. Fap

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

SETO, W.H et al. Infection prevention and control measures for acute respiratory infections in healthcare settings: an update. **Eastern Mediterranean Health Journal**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 39-47, 2013.

SILVA, E. J. N. L., PRADO, M. C., SOARES, D. N., HECKSHER, F., MARTINS, J. N. R., FIDALGO, T. K. S. The effect of ozone therapy in root canal disinfection: a systematic review. **International endodontic journal**, v.53, n.3, p. 317-332, 2020.

SILVEIRA, I.C.T. Cloro e ozônio aplicados à desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em *Daphnia similis*. 173 f. **Tese (Doutorado)** - Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

STATISTICAL ANALYSES SYSTEM – SAS. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 9.2. Cary: SAS, 2001

TARAN, V., GARKUSHA, I., GNIDENKO, Y., KRASNYJ, V., LOZINA, A., TARAN, A. et al. Portable ozone sterilization device with mechanical and ultrasonic cleaning units for dentistry. **Review of Scientific Instruments**, v.91, n.8, p. 084105, 2020.

TIZAOUI, C. Ozone: a potential oxidant for COVID-19 virus (SARS-CoV-2). **Ozone: Science & Engineering**, v. 42, n. 5, p. 378-385, 2020.

TORMIN, S.C. et al. Análise do efeito bactericida do ozônio sobre bactérias multirresistentes. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 1, n. 61, p. 138-141, 2016.

TORTORA, G.J., CASE, C.L., FUNKE, B.R. **Microbiologia-12^a Edição**. Artmed Editora, 2016.

TYSIĄC-MIŚTA, M., DUBIEL, A., BRZOZA, K., BUREK, M., & PAŁKIEWICZ, K. Air disinfection procedures in the dental office during the COVID-19 pandemic. **Medycyna pracy**, v.72, n.1, p. 39-48, 2021.

VAZQUEZ-ALCARAZ, S.J. et al. Development and validation of an instrument to assess adherence to occupational health protocols in dentistry. **Journal of Dental Education**, v. 85, n. 3, p. 331-340, 2021.

VERBEEK, J.H. et al. Personal protective equipment for preventing highly infectious diseases due to exposure to contaminated body fluids in healthcare staff. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 4, 2020.

WEST, A. M., TESKA, P. J., LINEBACK, C. B., OLIVER, H. F. Strain, disinfectant, concentration, and contact time quantitatively impact disinfectant efficacy. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v.7, n.1, p.1-8, 2018.

WOOD, J. P., WENDLING, M., RICHTER, W., ROGERS, J. The use of ozone gas for the inactivation of *Bacillus anthracis* and *Bacillus subtilis* spores on building materials. **PLoS One**, v.15, n.5, p. e0233291, 2020.

YESIL, M. et al. Efficacy of Gaseous Ozone Application during Vacuum Cooling against *Escherichia coli* O157: h7 on spinach leaves as influenced by bacterium population size. **Journal Of Food Protection**, [s.l.], v. 80, n. 7, p. 1066-1071, 2017.

ZEMOURI, C.; SOET, H.; CRIELAARD, W.; LAHEIJ, A. A scoping review on bio-aerosols in healthcare and the dental environment. **PLoS ONE**.12(5), 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal>.

ZUCKER, I., LESTER, Y., ALTER, J., WERBNER, M., YECHESKEL, Y., GAL-TANAMY, M. et al. Pseudoviruses for the assessment of coronavirus disinfection by ozone. **Environmental chemistry letters**, v.19, n.2, p. 1779-1785, 2021.

AGRADECIMENTOS

À Deus que em toda Sua sabedoria guiou as escolhas que me trouxeram até aqui.

À minha família, especialmente à minha mãe Maria Salete S. Araújo que nunca desistiu dos meus sonhos, nem mesmo quando eu mesma pensei em fazê-lo. Aos meus irmãos Helmiton C. S. Araújo e Herbert C. S. Araújo que sempre foram meus exemplos e à minha irmã Juliana S. Araújo que é minha companheira de todas as horas. Muito obrigada por sempre se fazerem presentes. Conseguimos!

À minha avó Maria Gouveia, in memoriam, por ser um exemplo de amor e bondade e por sempre estar com a mão estendida para nossa família nos momentos de provação.

Ao meu namorado Gabriel Souto por todo companheirismo e apoio tão importantes no meu último ano de graduação.

Ao Departamento de Odontologia da UEPB, em especial à minha orientadora Profa. Dra. Criseuda Maria Benício Barros, que me acolheu desde o início da graduação, à Mariana de Souza Gomes, Camila de Paiva Soares que foram essenciais durante a pesquisa e à toda equipe do NUBS que abriu as portas para mim desde o início da minha formação acadêmica e me auxiliam até hoje.

À minha banca examinadora Profa. Dra. Socorro pela disponibilidade e paciência, e à Profa. Dra. Raquel por todo carinho, respeito e atenção, não só durante a banca, mas também ao longo dos anos de graduação.

Aos meus colegas de turma, em especial a Junior Rodrigues, minha dupla Mateus Wilker, Taynná Rodrigues, Raquel Cordeiro, Felipe Araújo, João Mykael e Maria Carolina Valdivino por tornarem essa jornada mais leve e acolhedora.

Ao pessoal do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do CCBS da UEPB, que permitiram a realização das análises microbiológicas em suas dependências, especial à mestranda Niedja Eloi, que esteve presente como facilitadora durante toda a pesquisa.