

## Água purificada para laboratório: qualidade microbiológica, formação de biofilme e uso do ozônio como sanificante alternativo

Patrícia Lunardelli Negreiros de CARVALHO<sup>1\*</sup>  
Samir Antonio Rodrigues ABJAUDE<sup>2</sup>  
Taciane Maira Magalhães HIPOLITO<sup>3</sup>  
Antônio dos Reis LOPES<sup>4</sup>  
Luiz Carlos do NASCIMENTO<sup>5</sup>  
Sandra Maria Oliveira Morais VEIGA<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Mestre em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). E-mail: patrikapnc@gmail.com

<sup>2</sup> Farmacêutico. UNIFAL-MG. E-mail: samirabjaude@hotmail.com

<sup>3</sup> Mestranda em Ciências Farmacêuticas. UNIFAL-MG. E-mail: taciane.unifal@gmail.com

<sup>4</sup> Farmacêutico. UNIFAL-MG. E-mail: tonpharma@gmail.com

<sup>5</sup> Doutor, Professor de Microbiologia de Alimentos e Saúde Coletiva. UNIFAL-MG E-mail: luizc Nascimento@gmail.com

<sup>6</sup> Doutora, Professora de Saúde Coletiva aplicada à Farmácia, Controle de Qualidade Microbiológica de Alimentos e Microbiologia de Alimentos. UNIFAL-MG. E-mail: smveiga@gmail.com

Recebido em: 29/10/2012 - Aprovado em: 28/12/2012 - Disponibilizado em: 30/12/2012

\* **AUTOR CORRESPONDENTE:** Patrícia Lunardelli Negreiros de Carvalho

Endereço: Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-MG, Campus Alfenas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, 37130-000, Alfenas-MG, Brasil

Tel: (35)3299-1465

E-mail: patrikapnc@gmail.com

**Resumo:** A purificação da água utilizada em laboratórios e estabelecimentos de saúde é realizada por diferentes métodos, dependendo da sua finalidade. A presença de micro-organismos é permitida na mesma, desde que estejam dentro de limites especificados na legislação vigente e não sejam patogênicos. Assim, este trabalho avaliou a qualidade da água proveniente de equipamentos purificadores (destiladores e deionizadores), quanto aos agentes formadores de biofilmes. Também foram examinados fatores interferentes (mangueira, resina e água de abastecimento do equipamento) e a ação sanificante do ozônio sobre os micro-organismos isolados. Investigaram-se *Pseudomonas*, aeróbios mesófilos (AM) e fungos filamentosos e leveduras (FFL). Constatou-se que todas as amostras de água de deionizadores apresentaram quantificação de AM fora dos padrões recomendados. Adicionalmente, 60% das amostras apresentaram FFL e *Pseudomonas aeruginosa*. Apenas uma amostra de água destilada (estocada por mais de 24h) evidenciou valores de AM > 10 UFC/mL bem como *P. aeruginosa*. Nas resinas detectaram-se AM ( $m=1,75 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>), *P. aeruginosa* ( $m=2,03 \times 10^2$  UFC/100cm<sup>2</sup>) e FFL ( $m=2,5 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>). Encontraram-se quantidades elevadas de AM ( $m=7,0 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>), FFL ( $m=2,5 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>) e *P. aeruginosa* ( $m=1,0 \times 10^3$  UFC/100cm<sup>2</sup>) em 66,67% das mangueiras dos destiladores. Verificou-se contaminação da água após o processo de purificação (passagem pela resina), principalmente nos deionizadores, uma vez que a análise da qualidade da água que os abastecia estava dentro do permitido pela legislação vigente. Quanto aos micro-organismos isolados, o ozônio foi capaz de diminuir 9 ciclos log em 5 segundos. Portanto, o uso de água purificada e ozonizada se torna uma opção interessante e prática como sanificante alternativo.

**Palavras-chave:** Biofilme. Destilador. Deionizador. Qualidade da Água. Ozônio.

## Purified water laboratory: microbiological quality, biofilm formation and use of ozone as alternative sanitizer

**Abstract:** The purification of water used in laboratories and healthcare facilities should be performed by different methods, depending on your purpose. The presence of micro-organisms is allowed on the same, provided they are within the limits specified in legislation and are not pathogenic. Thus, this study evaluated the quality of water from scrubbers equipment (distillators and deionized) agents forming biofilms. Also examined were interfering factors (hose, resin and water supply equipment) and sanitizing ozone action on micro-organisms isolated. *Pseudomonas* were investigated, mesophilic aerobics (AM) and filamentous fungi and yeasts (FFY). It was found that all water samples showed deionized quantification AM outside the recommended standards. Additionally, 60% of the samples had FFY and *Pseudomonas aeruginosa*. Only one sample of distilled water (stored for more than 24 hours) showed values of AM > 10 CFU/ml, and *P. aeruginosa*. Resins were detected AM ( $m=1,75 \times 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>), *P. aeruginosa* ( $m=2,03 \times 10^2$  CFU/100cm<sup>2</sup>) and FFY ( $m=2,5 \times 10^1$  CFU/cm<sup>2</sup>). We found high amounts of AM ( $m=7,0 \times 10^1$  CFU/cm<sup>2</sup>), FFY ( $m=2,5 \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>) and *P. aeruginosa* ( $m=1,0 \times 10^3$  CFU/100cm<sup>2</sup>) in 66,67% of the hoses from the distillators.

There was water contamination after the purification process (passing through resin), mainly in deionized, since the analysis of water quality that was supplied to the extent permitted by law. As for the micro-organisms isolated, ozone was able to decrease 9 cycles log in 5 seconds. Therefore, the use of ozonated and purified water becomes an attractive option as sanitizing and practical alternative.

**Keywords:** Biofilm. Distillator. Deionized. Water Quality. Ozone.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido ao amplo uso da água em laboratórios farmacêuticos, cosméticos e de alimentos, seja no preparo de fórmulas farmacêuticas e cosméticas ou, ainda, nas diversas etapas de higienização e operações unitárias destes ambientes, a água merece especial atenção (BOTET, 2006; SILVA *et al.*, 2005).

A água pode receber tratamento diferenciado de purificação, conforme a aplicação que se deseja, sendo os métodos de destilação e deionização mais rotineiramente empregados (MACEDO, 2007). O monitoramento constante da qualidade microbiológica é exigido por lei para os estabelecimentos de saúde, indústria farmacêutica, laboratórios e farmácias (BRASIL, 2010a).

Dentre as legislações da ANVISA que regulamentam a produção ou manipulação de medicamentos, tem-se a Resolução RDC nº 17/2010 (BRASIL, 2010b), que trata das Boas Práticas de Fabricação para Indústria Farmacêutica, e a Resolução RDC nº 214/2006 (BRASIL, 2006), que estabelece as Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para uso Humano em Farmácias. Ambas são importantes, pois indicam que a água para fins farmacêuticos

deve ser adequadamente purificada para o uso ao qual se destina.

A água potável servida no Brasil pela rede pública também deve obedecer à Portaria do Ministério da Saúde MS nº. 2.914, de 12 de dezembro de 2011, a qual estabelece a Norma de Qualidade da Água Para Consumo Humano e dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água, bem como seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2011).

Deste modo, a qualidade físico-química e microbiológica da água (purificada ou potável) deve ser constantemente avaliada e os processos que permitem a eliminação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes da água adquirem, cada vez mais, importância sanitária, econômica e social (PADRÓN *et al.*, 1986; GERMANO; GERMANO, 2000).

De acordo com Macedo (2007), algumas contaminações microbiológicas da água estão associadas à presença de biofilmes aderidos nas superfícies das tubulações, filtros, conexões e tanques de estocagem. No biofilme, os micro-organismos estão mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos, como aqueles usados em procedimentos de higienização (PARIZZI, 1998; MOSTELLER; BISHOP, 1993). Esse acúmulo indesejável de depósitos biológicos sobre uma superfície contribui com a

diminuição da eficiência e da vida útil do equipamento.

Desta forma, o procedimento de higienização dos equipamentos purificadores de água deve ser periódico, para evitar a formação de biofilme bacteriano nas paredes do reservatório, equipamentos, conexões, entre outros (MACEDO, 2007).

Considerando o exposto, este trabalho avaliou a qualidade da água proveniente de equipamentos purificadores (destiladores e deionizadores), quanto aos agentes formadores de biofilmes, além de examinar fatores interferentes (mangueira, resina e água de abastecimento do equipamento) e a ação sanificante do ozônio sobre os micro-organismos isolados.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas, em duplicata, 11 amostras de água oriundas de purificadores, sendo 06 destiladores (A-DEST) e 05 deionizadores (A-DEIO), além de 04 amostras de resinas provenientes destes deionizadores e 03 amostras de mangueiras dos destiladores analisados previamente (a conexão que sai do filtro de água e chega ao destilador). Complementarmente, analisaram-se também 07 amostras de água de abastecimento dos equipamentos, cuja resina e mangueiras foram avaliadas.

## Análise microbiológica das amostras de água purificada e da rede de abastecimento

Procedeu-se a coleta das amostras de água dos destiladores ou deionizadores monitorados, bem como da água da rede de abastecimento destes equipamentos, de forma asséptica, utilizando frascos estéreis, com capacidade para 200 mL de amostra. Ressalva-se que nas coletas de água de abastecimento foram utilizados frascos contendo tiosulfato de sódio, para neutralizar o cloro residual. Após a coleta, as amostras foram devidamente identificadas, acondicionadas em caixa isotérmica e direcionadas para a realização das análises físico-químicas e ensaios microbiológicos.

Pesquisaram-se micro-organismos formadores de biofilmes (*Pseudomonas aeruginosa*), empregando a técnica da membrana filtrante descrita em Silva *et al.* (2005), filtrando-se 100 mL de água e, posteriormente, acoplado-se a membrana ao ágar Cetrimide. As placas foram incubadas em estufa 35-37°C/24h e, em seguida, realizou-se a contagem das colônias típicas, procedendo às provas bioquímicas descritas por Bier (1978).

Realizou-se também a avaliação microbiológica das amostras de água, por meio da contagem de aeróbios mesófilos (AM – técnica do pour plate) e fungos filamentosos e leveduras (FFL-técnica da semeadura) (SILVA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2007; APHA, 2005). Para completar os resultados

microbiológicos, determinou-se também o pH das amostras de água analisadas.

Os dados obtidos foram comparados aos instrumentos legais vigentes: Portaria nº 2.914/2011 (água de abastecimento), RDC nº 67/2007 e Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010a), ambas para água purificada.

### **Análise microbiológica das mangueiras e resinas**

Utilizou-se a técnica do “swab”, friccionando-o em uma área de 50 cm<sup>2</sup>. Posteriormente, fez-se uma suspensão do material em 50 mL de solução salina estéril com 10% de tween 80, de forma que cada mL da suspensão correspondesse ao material amostrado em uma área correspondente a um cm<sup>2</sup>. Em seguida, procederam-se os ensaios microbiológicos para contagem de *Pseudomonas aeruginosa* (utilizou-se 10 mL da suspensão obtida, adicionada de 90 mL de salina e posterior filtração em membrana) e quantificação de Aeróbios Mesófilos e fungos filamentosos e leveduras. O resultado foi expresso em UFC/mL da suspensão ou UFC/cm<sup>2</sup> da superfície analisada.

### **Metodologia para avaliação da eficiência do ozônio, como sanificante alternativo.**

#### **-Obtenção das suspensões microbianas**

Foram preparadas suspensões com 5mL de salina estéril, a partir das cepas de *P. aeruginosa* isoladas, em fase logarítmica, utilizando-se o tubo número 4 da escala de McFarland como padrão comparativo.

Alíquotas de 0,5 mL de cada tubo foram transferidas para um único tubo, formando um *pool* das dez cepas isoladas durante o estudo. Deste *pool*, considerado como controle, fez-se plaqueamento para a contagem do número de bactérias.

#### **-Produção da salina ozonizada**

Para a produção de salina ozonizada, foram adicionados 99 mL de salina estéril a um reator de cristal, com capacidade para 100 mL, vedado com *Parafilm*® (para evitar a degasagem). Com auxílio de um difusor de bolhas finas, borbulhou-se a mistura ozônio/oxigênio, produzida por gerador de ozônio (Ozonic®, com capacidade de produção de 2 g/h, quando acoplado ao cilindro de oxigênio).

#### **-Experimento**

O experimento foi conduzido em duplicata, utilizando-se um tratamento com ozônio e quatro tempos de avaliação, de acordo com a metodologia de Veiga *et al.* (2003), com algumas modificações.

Ao colocar o volume de 99 mL de salina estéril no reator de cristal, o sistema de ozonização foi acionado por 20 minutos, para obter a saturação de, aproximadamente, 1,2 mg/L.

Em seguida, adicionou-se ao reator, 1 mL da suspensão de bactérias (*pool*) a ser tratada. O tempo foi cronometrado e manteve-se o fluxo de ozônio constante, até a finalização do experimento.

Coletaram-se alíquotas de 1 mL nos tempos 05, 15, 30 e 60 segundos, as quais foram rapidamente transferidas para tubos contendo 10 µL de tiosulfato de sódio, a 2%, com a finalidade de neutralizar o ozônio remanescente. Posteriormente, 0,1mL das amostras coletadas, nos tempos pré-determinados, bem como suas diluições, foram inoculadas, em duplicata, em meio de cultura apropriado (Ágar Cetrimide) e incubadas a 37°C/24h.

#### **-Titulação**

A concentração de ozônio foi avaliada pelo método iodimétrico, titulando-se a água ozonizada produzida no reator de cristal (MAGNAGO *et al.*, 2005; APHA, 2005).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

#### **-Análise das amostras de água purificada**

A Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010a) especifica que a água purificada deve estar com ausência de *Pseudomonas* em 100 mL de água e a contagem de bactérias total não deve ultrapassar 100 UFC/mL.

Na Tabela 1, estão dispostos os valores de pH e os resultados das análises microbiológicas (quantificação de Aeróbios Mesófilos (AM, UFC/mL), *P. aeruginosa* (UFC/100mL) e Fungos Filamentosos e Leveduras (FFL, UFC/mL) das amostras de água provenientes dos destiladores (DEST) e deionizadores (DEIO) analisados.

De acordo com os parâmetros aceitos pela RDC nº 67/2007, apenas uma amostra

(20%) de A-DEIO apresentou o valor de pH fora do limite permitido (6,0-9,5) (Tabela 1). Neste parâmetro, as amostras de A-DEST apresentaram-se dentro dos valores aceitos.

Os resultados microbiológicos evidenciaram elevada contaminação da A-DEIO em relação a A-DEST (Tabela 1).

A presença de *P. aeruginosa* foi observada em 60% das amostras de A-DEIO e em 16,67% de A-DEST, referente a uma amostra dentre as seis analisadas, sendo esta a única cujo estoque no barrilete ultrapassou 24 horas, reforçando a sugestão apresentada pela Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010a) de que o estoque de água destilada por tempo maior que este, influencia negativamente a qualidade microbiológica da água, tornando-a inapropriada para o uso farmacêutico.

Em relação à quantificação de AM, 100% das amostras de A-DEIO apresentaram-se em desconformidade com os padrões recomendados. Ao contrário, apenas a amostra de A-DEST estocada por mais de 24h evidenciou valores maiores que 10 UFC/mL (510 UFC/mL), reforçando o discutido anteriormente. Deve-se assinalar que, para as águas deionizadas e destiladas, o nível de alerta em relação aos AM é da ordem de  $10^2$  UFC/mL (BRASIL, 2010a).

Com relação aos FFL nos deionizadores, 60% das amostras de água analisadas apresentaram valores iguais ou maiores que  $10^3$  UFC/mL. Ressalta-se que o valor de pH baixo (5,5) possivelmente

contribuiu com o maior desenvolvimento de fungos (DEIO-01:  $2,15 \times 10^4$  UFC/mL).

Em relação à análise microbiológica da água para fins farmacêuticos, Bara *et al.* (2005) verificaram que, dentre as 59 amostras analisadas, 44% estavam em desacordo com as especificações farmacopeicas; entre as amostras reprovadas, detectaram-se problemas em duas amostras de água destilada e 24 amostras de água deionizada,

cujos valores da contagem padrão de bactérias heterotróficas variaram de 1,2 a  $2,3 \times 10^3$  UFC/g. Os autores também concordam que a qualidade microbiológica da água deionizada constitui um problema a ser solucionado. Aconselharam que a saturação da resina do deionizador, a manutenção inadequada do equipamento e da caixa d'água podem maximizar os problemas detectados.

**Tabela 1** - Resultados das análises microbiológicas e valores de pH das amostras de água provenientes de destiladores (DEST) e deionizadores (DEIO).

Equipamento	pH	AM (UFC/mL)	<i>P. aeruginosa</i> (UFC/100mL)	FFL (UFC/mL)
DEST-01	6,0	$1,0 \times 10^1$	Ausência	Ausência
DEST-02	7,0	Ausência	Ausência	Ausência
DEST-03	7,0	5,0	Ausência	$1,0 \times 10^2$
DEST-04	7,0	3,0	Ausência	Ausência
DEST-05	6,5	$1,0 \times 10^1$	Ausência	Ausência
DEST-06	6,5	$5,1 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$
DEIO-01	5,5	$1,44 \times 10^3$	$1,35 \times 10^2$	$2,15 \times 10^4$
DEIO-02	7,0	$1,07 \times 10^4$	Ausência	$5,38 \times 10^3$
DEIO-03	7,0	$8,05 \times 10^4$	Ausência	$4,73 \times 10^3$
DEIO-04	7,0	$3,20 \times 10^2$	$7,5 \times 10^2$	Ausência
DEIO-05	7,0	$1,0 \times 10^4$	$3,9 \times 10^1$	Ausência

Fonte: os autores

### -Análise das amostras de resina e mangueira

As análises microbiológicas da mangueira, assim como da resina, se tornam importantes para demonstrar que a qualidade da água purificada proveniente do equipamento está exclusivamente relacionada com o processo de purificação, bem como, com a manutenção e higienização que este equipamento recebe periodicamente. Assim, é possível comparar a eficiência de purificação entre os destiladores e deionizadores.

Nas resinas analisadas (Tabela 2), detectaram-se AM, *Pseudomonas* e FFL. Verificou-se, assim, a importância de fatores, como a vida útil da resina, sua recuperação e possível sanificação da água obtida, pois o deionizador não produz água purificada com baixos níveis de micro-organismos nem é capaz de eliminá-los.

Ainda nesta Tabela 2 é possível reforçar a importância da limpeza e troca periódica das mangueiras que comunicam o filtro de água com o equipamento destilador de água.

Verificou-se que 66,67% das mangueiras apresentaram-se com elevadas contagens de AM e FFL. Além disso, duas amostras analisadas foram positivas para *P. aeruginosa*, bactéria potencialmente formadora de biofilme.

De acordo com Pinto; Kaneko; Ohara (2000), independente do processo utilizado, o desenvolvimento de biofilmes pode ocorrer,

de acordo com a qualidade da água de alimentação e do regime de operação do sistema de tratamento.

Comparando os resultados na Tabela 3, verificou-se ocorrência de contaminação da água posteriormente ao processo de purificação. É possível observar que o caso se agrava, principalmente após a passagem pela resina.

**Tabela 2** - Resultado das análises microbiológicas realizadas para a resina dos deionizadores (R-DEIO) e para mangueiras que saem do filtro e chegam ao destilador (MG-DEST).

Equipamento	AM (UFC/cm <sup>2</sup> )	<i>P. aeruginosa</i> (UFC/100cm <sup>2</sup> )	FFL (UFC/cm <sup>2</sup> )
R-DEIO-01	Ausência	36 x 10 <sup>1</sup>	Ausência
R-DEIO-02	2,0 x 10 <sup>2</sup>	4,0 x 10 <sup>1</sup>	Ausência
R-DEIO-03	1,0 x 10 <sup>2</sup>	Ausência	1,0 x 10
R-DEIO-04	4,0 x 10 <sup>2</sup>	5,0	9,0 x 10
MG-DEST-04	1,9x10 <sup>3</sup>	>1,0x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>3</sup>
MG-DEST-05	2,0x10 <sup>2</sup>	Ausência	5,0x10 <sup>3</sup>
MG-DEST-06	1,0	>1,0x10 <sup>3</sup>	Ausência

Fonte: os autores

**Tabela 3** - Compilação dos resultados de equipamentos com dados microbiológicos e pH do monitoramento das amostras de água de abastecimento (AA), resina (R) ou mangueira (MG) e água purificada proveniente de deionizador (DEIO) e destilador (DEST)

ORIGEM	AM (UFC/mL ou cm <sup>2</sup> )	FFL (UFC/mL ou cm <sup>2</sup> )	<i>P. aeruginosa</i> (UFC/100mL ou 100cm <sup>2</sup> )	pH
AA-DEIO-01	4,0	3,0x10 <sup>2</sup>	Ausência	7,0
R-DEIO-01	0	0	Presente	-
DEIO-01	1,44x10 <sup>3</sup>	2,15x10 <sup>4</sup>	Presente	5,5
AA-DEIO-02	2,0x10 <sup>1</sup>	5,0	Ausência	7,0
R-DEIO-02	2,0x10 <sup>1</sup>	0	Presente	-
DEIO-02	1,07x10 <sup>4</sup>	5,383x10 <sup>3</sup>	Ausência	7,0
AA-DEIO-03	1,50	1,65x10 <sup>3</sup>	Ausência	7,0
R-DEIO-03	1,0x10 <sup>1</sup>	1,0	Ausência	-
DEIO-03	8,05x10 <sup>4</sup>	4,73x10 <sup>3</sup>	Ausência	7,0
AA-DEIO-04	4,25x10 <sup>2</sup>	9,0x10 <sup>2</sup>	Ausência	6,5
R-DEIO-04	4,0x10 <sup>1</sup>	9,0	Presente	-
DEIO-04	3,2x10 <sup>2</sup>	0	Presente	7,0
AA-DEST-04	1,08x10 <sup>2</sup>	1,3x10 <sup>2</sup>	Ausência	7,0
MG-DEST-04	1,9x10 <sup>2</sup>	2,5x10 <sup>2</sup>	Presente	-
DEST-04	3,0	0	Ausência	7,0
AA-DEST-05	6,0	7,5x10 <sup>1</sup>	Ausência	7,0
MG-DEST-05	2,01x10 <sup>2</sup>	5,0x10 <sup>3</sup>	Ausência	-
DEST-05	1,0x10 <sup>1</sup>	0	Ausência	6,5
AA-DEST-06	3,2x10 <sup>2</sup>	5,0x10 <sup>1</sup>	Presente	7,0
MG-DEST-06	1,0	0	Presente	-
DEST-06	5,1x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>	Presente	6,5

AM: Aeróbios Mesófilos; FFL: fungos filamentosos e levedura; -: não avaliado. Fonte: os autores.

### **-Análise das amostras de água de abastecimento dos equipamentos purificadores**

A água potável, servida no Brasil pela rede pública, deve obedecer à Portaria MS nº. 2.914/2011. Assim, fez-se análise microbiológica e determinação do pH, para as amostras de água de abastecimento dos equipamentos, cuja resina e mangueiras foram analisadas (Tabela 3).

O valor de pH encontrado para todas as amostras de água de abastecimento dos equipamentos purificadores de água foi adequado.

A contagem de AM observada, apesar de encontrar-se em acordo com o preconizado pela Portaria MS nº 2.914/2011, poderia ter apresentado uma redução ainda maior com a

limpeza periódica da caixa de água, que contribuiria também com a diminuição nos valores preocupantes encontrados para FFL, tanto na água que abastece destiladores, quanto deionizadores.

Destaca-se também a presença de *P. aeruginosa* na amostra AA-DEST-06.

Comparando estes resultados (Tabela 3) aos da Tabela 1, reforça-se a possibilidade da ocorrência de contaminação posterior ao processo de purificação (após passagem pela resina), principalmente nos deionizadores.

**Tabela 4** - Avaliação da eficiência da água ozonizada sobre as cepas de *Pseudomonas* detectadas neste estudo

Contagem inicial	t=5s	t=15s	t=30s	t=60s
$2,64 \times 10^{15}$ UFC/mL	$5,0 \times 10^6$ UFC/mL	$5,0 \times 10^6$ UFC/mL	$9,25 \times 10^4$ UFC/mL	$4,25 \times 10^4$ UFC/mL

Fonte: os autores

### **-Eficiência do ozônio sobre as cepas de *P. aeruginosa* isoladas**

Após a realização da titulação e dos cálculos para a dosagem de ozônio em água, verificou-se que a concentração de ozônio obtida no experimento foi de 1,2 ppm.

Os resultados, em UFC/mL, alcançados no experimento estão expostos na Tabela 4.

Verificou-se que houve redução de 9 ciclos log após 5 e 15 segundos de ozonização; e, redução de 11 ciclos log após 30 e 60 segundos de tratamento. Assim, a

redução foi de 100%, estando o ozônio apto para ser utilizado como sanificante alternativo, após a obtenção de água purificada.

Na literatura, Veiga *et al.* (2003) também observaram a eficiência do ozônio sobre cepas de *P. aeruginosa* (ATCC 27853), e verificaram que o ozônio, na concentração de 0,6mg/L, foi capaz de reduzir 99,99%, com 5 segundos de exposição.

Os autores Velano *et al.* (2001) avaliaram, *in vitro*, a atividade antibacteriana da água ozonizada, frente ao *Staphylococcus*



*aureus* e observaram tempo de 5'25'' para a inativação total das bactérias tratadas com água previamente ozonizada (0,6 mg/mL). Para a água não previamente ozonizada, o tempo foi de 23'45'', indicando um efeito antibacteriano mais rápido para a água previamente ozonizada.

Sabe-se que numerosos compostos industriais de desinfecção, além de provocarem mutações, deixam resíduos, enquanto que, no processo de ozonização realizado através de práticas, dosagens e tempo de exposição adequada, não se encontram resíduos e a ação é muito mais eficaz, além de estarem comprovadas as propriedades germicidas do ozônio mediante sua aplicação em diferentes tempos e em determinadas concentrações (BIERNAT *et al.*, 2006; TORRES *et al.*, 1996).

#### 4. CONCLUSÕES

Detectaram-se micro-organismos, incluindo *P. aeruginosa*, micro-organismo potencialmente formador de biofilme, nas amostras de água de abastecimento, purificada, mangueiras e resina dos equipamentos amostrados, evidenciando-se a necessidade de monitoramento e higienização periódica do equipamento e acessórios.

O ozônio revelou-se uma alternativa eficaz como tratamento da água purificada, contribuindo com a segurança na utilização desta matéria prima.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio financeiro da FAPEMIG.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed. EUA: Editora AWWA, 2005.

BARA, M. T. F. *et al.* **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 38-44, 2005.

BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 19 ed. São Paulo: Melhoramentos, 1978. 1062p.

BIERNAT, J.C. *et al.* Amiloidose por hemodiálise: o que pode mudar com ozônio e água ultra-pura?. *Medicina avançada*, 23 de fevereiro de 2006. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias.php?noticiaid=18684&assunto=Rim/Rins/Nefrologia>>. Acesso em: <12 de outubro de 2007>.

BOTET, J. **Boas práticas em instalações e projetos farmacêuticos**. São Paulo: RCN Editora, 2006. 360p.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010a. Volume 1. 546 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria MS nº. 2194 de 12 de dezembro de 2011**, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução – RDC nº 17 de 16 de Abril de 2010**, que dispõe sobre o Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. Brasília, 2010b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução – RDC nº 214 de 12 de Dezembro de 2006**, que dispõem sobre as Boas Práticas de

Manipulação de Medicamentos para uso humano em Farmácias. Brasília, 2006.

BRASIL. **RDC nº 67 de 08 de Outubro de 2007**, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção da saúde. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.24, p.59- 66, jan./fev. 2000.

MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. 3 ed. Revisada e atualizada. Belo Horizonte: CRQ/MG, 2007. 1043p.

MAGNAGO, L.R.; MARIANO, R.C.; OLIVEIRA, D.I.; FIORINI, J.E.; VEIGA, S. M.O.M. Adequação de um ozonizador doméstico para uso odontológico. In: **XI Jornada de Iniciação Científica de Alfenas**, 2005, Alfenas. Anais, 2005. v. cd-rom.

MOSTELLER, T.M.; BISHOP, J.R. Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm. **Journal of Food Protection**, v. 56, p. 34-41, 1993.

PADRÓN, G. *et al.* Utilización del ozono como agente desinfectante de aguas contaminadas con Salmonellas. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiology**, v. 24, n. 4, p. 435-438, oct./dic. 1986.

PARIZZI, S.Q.F. **Adesão bacteriana em superfície de serviço de alimentação hospitalar avaliada pela microscopia de epifluorescência**. 1998. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.

PINTO, T.J.A; KANEKO, T.M.; OHARA, M.T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu, 2000. 309 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual**

**de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007. 552p.

SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela, 2005. 164 p.

TORRES, E. A. F. S.; ROGÊ FERREIRA, A. F.; RÍMOLI, C. D.; OLIVO, R. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

VEIGA, S. M. O. M.; NASCIMENTO, L. C.; CARVALHO, E. P.; CARDOSO, C. C.; FIORINI, J. E. Eficácia da água ozonizada contra patógenos encontrados em água e alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 95-99, 2003.

VELANO, C.E.E.; NASCIMENTO, L.C.; BARROS, L.M.; PANZERI, H. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, p. 18-22, 2001.