UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

BRUNO PEREIRA DE OLIVEIRA

Concepção de uma nova plataforma instrumental para
esterilização fotônica, química e térmica de instrumento e materiais
de uso na saúde

São Carlos
2016

BRUNO PEREIRA DE OLIVEIRA

Concepção de uma nova plataforma instrumental para
esterilização fotônica, química e térmica de instrumento e materiais
de uso na saúde

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Física do Instituto de
Física de São Carlos da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Área de concentração: Física Aplicada
Opção: Física Biomolecular
Orientador: Prof. Dr. Vanderlei Salvador
Bagnato.

Versão Corrigida
(versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos
2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica revisada pelo Serviço de Biblioteca e Informação do IFSC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira, Bruno Pereira de

Concepção de uma nova plataforma instrumental para
esterilização fotônica, química e térmica de
instrumento e materiais de uso na saúde / Bruno
Pereira de Oliveira; orientador Vanderlei Salvador
Bagnato - versão corrigida -- São Carlos, 2016.
99 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
Física Biomolecular) -- Instituto de Física de São
Carlos, Universidade de São Paulo, 2016.

1. Autoclave. 2. Esterilização. 3. Ultravioleta.
4. Ozônio. I. Bagnato, Vanderlei Salvador, orient.
II. Título.

Dedico esta dissertação aos meus pais Selma e Adilson e aos meus avós Abrão e Adalgiza, pois eles sabem o quanto lutei até chegar neste momento.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Vanderlei Salvador Bagnato no qual foi o primeiro dentro do instituto a acreditar no meu potencial para realização de um mestrado em Física, sempre me apoiou e motivou em momentos difíceis ocorrido durante o desenvolvimento deste projeto. Tive um enorme aprendizado neste período, agradeço as cobranças e correções que me fizeram sair da zona de conforto.

O laboratório de apoio tecnológico teve uma grande participação e tive o prazer de aprender muito trabalhando com eles em especial o Engenheiro Daniel e Engenheiro Paulo, que me ensinou e confeccionou a eletrônica do protótipo.

Outro pilar importante para o sucesso é as oficinas mecânicas, pela enorme ajuda e empenho para as confecções das peças mecânicas solicitadas, como representante delas agradeço o Ademir, Evaldo, Leandro (Óptica), Leandro, Pereira estes estavam sempre pré-dispostos em ajudar e a todos os funcionários da Biblioteca que sempre explicitou minhas dúvidas e ajudou a resolver os questionamentos.

No laboratório de Biofotônica, agradeço muito a Dra. Kate Cristina Blanco juntamente com a Dra. Natália Mayumi Inada que me acompanhou nos testes microbiológicos, em que tive a honra de aprender veementemente, agradeço também os professores do grupo de óptica Dra. Cristina Kurachi e Dr. Jarbas Caiado de Castro Neto pela confiança depositada em mim e sempre dispostos em ajudar.

Um ponto importante é agradecer a todos os não recebidos nos ingressos de mestrado, estes me mostraram que sempre temos que saímos da zona de conforto e jamais parar de tentar e buscar os sonhos que se tem na infância independentemente do tamanho do mesmo.

Outro ponto fundamentalmente importante é a minha família que sempre esteve presente nos momentos bons e complicados, me ensinando a sempre olhar a frente independentemente dos problemas impostos pela vida. Quero salientar o agradecimento de forma imensurável os sacrifícios que meus pais Selma e Adilson fizeram para me manter focado e como o suporte básico necessário para a continuação dos meus estudos, sem eles não teria nem se quer me formado.

Por fim agradeço a todos os amigos que fiz e que continua presente na minha vida, estes estarão sempre presente no meu coração e mente. E ao Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica (CEPOF) e a empresa Bio-Art Equipamentos odontológicos no qual foram o suporte financeiro para o desenvolvimento de todo o projeto juntamente com a Fundação de Apoio a Física e á Química (FAFQ).

Você é o que pensar ser, se acreditar
que não consegue, você está certo –
Henry Ford

RESUMO

OLIVEIRA, B. P. **Concepção de uma nova plataforma instrumental para esterilização fotônica, química e térmica de instrumento e materiais de uso na saúde**. 2016. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

A grande maioria das infecções causadas em ambientes médicos-odontológicas é proveniente de contaminações cruzadas, quando se tem contato entre diferentes instrumentos e /ou aparelhos contaminados após procedimentos médicos.

Atualmente o padrão aceito e amplamente utilizado para esterilização de instrumental são os equipamentos chamados de autoclaves, em que é reconhecido e aceito pelos órgãos legisladores. Porém alguns tipos de instrumental e material não podem ser esterilizados utilizando este método tendo uma outra vertente que é aplicação de agentes químicos. Esses criam problemas socioambientais relacionados a sua utilização e descarte.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma autoclave multifuncional com a utilização de gás ozônio, ultravioleta e calor úmido, em que se testou e analisou microbiológica os protocolos de esterilização, obtendo entendimento e otimização do mesmo.

Os resultados mostraram-nos que a configuração desenvolvida atingiu aspectos de esterilidade nos protocolos de esterilização avaliados.

Entretanto tem a necessidade de aprofundar estudos aplicando o baixo vácuo para o entendimento quanto a utilização quanto os protocolos do funcionamento e uma futura otimização para produção em larga escala.

Palavras-chave: Autoclave. Esterilização. Ultravioleta. Ozônio.

ABSTRACT

OLIVEIRA, B. P. **Design a new instrument platform for sterilizing photonics, chemical and thermal of the instrumental and materials in use of health.** 2016. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

Most of infection in the medical-dental office is prevent of cross-contamination, when have the contact with different instrumental and materials without basic control after the process and contact on patient.

This point have the standard protocol was accept and described in literature, its utilizing for instrumental sterilizing is the autoclave, it is recognized by organs legislators. However, some instrumental and materials not be accept in this method, on this is necessary one method second in this case is chemical on the instrumentation, but created environmental problem in relation its application.

Therefore, this research made the proof of conception in the multifunctional autoclave with the option ozone, ultraviolet and moist heat, what it is analyzing the microbiological protocols of the sterilizing, understanding and optimization the sterilizing process.

This results show us which this constructive configuration in this work reached aspects of the sterilizing in the protocols, describe in this text.

In the future research in this subject could be study the strongly aspects about the vacuum process before the sterilizing process with ozone gas and development and optimization the prototype for make the scaling up

Keywords: Autoclave. Sterilization. Ultraviolet. Ozone.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ciclo de esterilização de uma autoclave com funcionamento do tipo B.	26
Figura 2 -	Binômio (Pressão x Tempo), de um funcionamento de uma autoclave tipo N em seu ciclo de funcionamento.	27
Figura 3 -	Exemplos de canetas contra ângulo de alta e baixa rotação, atualmente pode aplicar o processo de autoclavagem.	30
Figura 4 -	Modelos de alicates cutículas de unha passíveis de autoclavagem, mais perde a sensibilidade de corte.	30
Figura 5 -	A-) Brocas odontológicas diamantadas; B-) Brocas laminadas de metal.....	31
Figura 6 -	Utilização de um modelo do afastador bucal durante um procedimento odontológico e como tem o contato direto com o paciente sem nenhum tipo de proteção.	33
Figura 7 -	Espectro de luz em toda a faixa desde raios gama até ondas de rádio passando pela luz visível.	36
Figura 8 -	Espectro ampliado detalhando os diferentes comprimentos de onda da luz UV variando de 100 - 400 nm	36
Figura 9 -	Fotoprodutos de DNA primário causado pela ação do UV-C e também UV-B: dímeros de ciclo butano pirimidina (DCP) (a) Fotoprodutos de esporos (FE) (b) Pirimidina 6 - 4 Fotoprodutos pirimidina (6-4PFP) (c) 8-oxo-7,8-dihidro-2'2'-deoxiguanosina.....	38
Figura 10 -	Timina monomerização é a formação do fotoproduto na fase vegetativa dos microrganismos; fotoproduto formado no esporo pela ação da luz UV-C.	39
Figura 11 -	Exemplificação do dano gerado pela luz ultravioleta quando é absorvida pela fita de DNA.....	40
Figura 12 -	Desenho esquemático da lâmpada germicida ultravioleta.....	41
Figura 13 -	Estrutura química do ozônio e sua forma mais comum presente no meio ambiente.	42
Figura 14 -	Esquematização da formação de ozônio via a utilização de luz UV.....	45
Figura 15 -	Esquematização da produção de ozônio pela diferença de potencial – DDP.....	45

Figura 16 -	Curva teórica de morte microbiana por método térmico	49
Figura 17 -	Autoclave da Cristófoli utilizada nos testes iniciais	51
Figura 18 -	Modelo de autoclave da Bio-Art utilizada como versão final de protótipo.	51
Figura 19 -	Gerador de ozônio dentro da caixa mostrando os equipamentos embutidos, tais itens são: 1) caixa de geração de ozônio; 2) Mangueiras de silicone; 3) Difusores de fluxo; 4) Filtro para retenção dos componentes do ar.	53
Figura 20 -	Imagem exportada do projeto feito no software Inventor (2016) no casco da autoclave de 21 L mostrando as aberturas para o encaixe das janelas de proteção e contra vazamento.	53
Figura 21 -	Foto da lâmpada pronta colocada o quartzo, parafusos e vedantes; A-) Janela fixada na parede do casco; B-) Lado de fora da autoclave e a fixação das lâmpadas de UV com o protetor; C-) Imagem panorâmica interna da autoclave com suas janelas.	54
Figura 22 -	Montagem do sistema de fluxo do ozônio e suas conexões; A-) Foto mostrando como é feita as conexões e o posicionamento das válvulas solenoides na autoclave; B-) Sistema do gerador de ozônio conectado no tubos de escoamento.....	55
Figura 23 -	Painel de controle dos mecanismos de funcionamento da autoclave de 21 L; 1) Liga/Desliga todas as funções da autoclave; 2) Liga/Desliga UV; 3) Entrada/Saída do gás ozônio no casco; 4) Refluxo seleciona do fluxo do ozônio contido no casco; 5) Liga/Desliga bomba de fluxo ozônio; 6) Liga/Desliga o gerador de ozônio.	55
Figura 24 -	A-) Todo a constituição eletromecânica do sistema de funcionamento multifuncional da autoclave de 21 L; B-) Imagem da autoclave em funcionamento com a luz-ultravioleta	57
Figura 25 -	Imagem retirada do Software Inventor do projeto para inserção das janelas contendo quartzo com uma moldura de alumínio.....	58
Figura 26 -	Foto do gerador de ozônio e suas partes; 1) Tubulação de fluxo do gás ozônio; 2) Fonte geradora de tensão para o funcionamento; 3) Botão regulador da tensão gerada no fluxo (controle da geração da concentração).	59
Figura 27 -	Imagem das janelas instaladas internamente no casco e o funcionamento dentro da autoclave de 17 L	60
Figura 28 -	Projeto da estrutura final e distribuição dos equipamentos da autoclave multifuncional desenhado no inventor.	60

Figura 29 - Projeto no software inventor do sistema compondo o catalisador e o filtro.....	61
Figura 30 - Digrama do projeto da autoclave multifuncional sem a utilização do baixo vácuo, e todo o sistema de escoamento pertencente e controle e automação projetada.	62
Figura 31 - Foto do CLP da marca Dakol modelo JZ20-J-R31 sw 11 saídas utilizado na automação do projeto.	62
Figura 32 - Bomba a vácuo utilizada no sistema, imagem de seu acoplamento na autoclave.....	63
Figura 33 - Deposito da E. Coli nas placas multipoços de orifícios dentro do fluxo para os testes de esterilização.....	64
Figura 34 - Semeadura dos microrganismos no meio sólido em uma placa petri.....	65
Figura 35 - Estrutura para posicionar as placas de quartzo durante os testes sem embalagem de esterilização.	66
Figura 36 - Posicionamento das amostras dentro da autoclave para os testes de esterilização.....	67
Figura 37 - Esquematização experimental para contaminação da superfície por imersão a seta indica o movimento realizado dentro do fluxo: 1-) Placa de quartzo; 2-) Tubo falcon; 3-) Fluido contendo os microrganismo em concentração inicial maior que 10^6 UFC/mL.	67
Figura 38 - Procedimento de coleta dos microrganismos nas placas após procedimentos de esterilização. Em azul é a placa de quartzo (transmite a luz UV), em preto o swab para a coleta em vermelho o sentido do esfregaço para retirada de amostras; foram realizadas 3 vezes a coleta em todos os lados da placa e emplacado em triplicata.	68
Figura 39 - Sequência da metodologia experimental para certificação da esterilização dos métodos: 1) placa mergulhada em tubo falcon contendo MO; 2) Embalagem ou proteção para levar até a autoclave multifuncional; 3) Ciclo de esterilizações UV, O3 e O3 + UV (C/ vácuo e S/ vácuo; 4) plaqueamento em triplicata e com cinco amostras; 5) estufa por 24 horas a 37 °C e contagem das colônias.....	69
Figura 40 - Multímetro medindo a corrente elétrica consumida pela autoclave multifuncional.....	69
Figura 41 - Espectrômetro da <i>ocean optics</i> , utilizando para a medida da intensidade	71

Figura 42 -	Esquemática do casco da autoclave e o ponto vermelho representa a localização aproximada da medida da intensidade, as setas são os sentidos em que as foram realizados e os nomes dados nos resultados	71
Figura 43 -	Pontos de coleta da intensidade dentro do casco da autoclave, medidas feitas no ponto 1 (frontal); 2 (meio); 3 (fundo) sendo equidistantes.	72
Figura 44 -	Esquemática das posições para a medição do poder luminoso da lâmpada utilizada no protótipo	72
Figura 45 -	Imagem frontal do CLP com os seguintes itens: 1-) Botão de confirmação do processo; 2-) Visor dos ciclos e seleção; 3-) Entrada para configuração; 4-) Botão de confirmação da ação; 5-) botão de escolha do ciclo; 6-) Cancelamento do ciclo.	73
Figura 46 -	Bomba a vácuo utilizada para retirada do ar de dentro da câmara	74
Figura 47 -	Esquemática experimental para a medida de pressão e a sua constituição básica	75
Figura 48 -	Gráfico para medida de pressão no interior do casco relacionando a tensão com a medida de pressão.	75
Figura 49 -	Foto da configuração do protótipo para os testes iniciais aplicando o vácuo antes da utilização do sistema de O ₃	76
Figura 50 -	Cinética de morte utilizando o ciclo de ultravioleta (UV) com uma concentração inicial de 10 ⁶ de <i>E. Coli</i> sem a utilização do vácuo.	77
Figura 51 -	Cinética de morte utilizando o gás ozônio sem embalagem com a concentração inicial de <i>E. coli</i> de 10 ⁷ , sem a utilização da embalagem e contaminação nas placas multipos.	79
Figura 52 -	Teste de esterilização com ozônio embalado em papel de grau cirúrgico com a concentração inicial de 10 ⁷ de solução de <i>E. coli</i>	80
Figura 53 -	Teste de compreensão da taxa de morte de microrganismos na autoclave 17 L, com concentração inicial de 10 ⁷ UFC/mL.	81
Figura 54 -	Experimento utilizando placas de quartzo contaminadas com <i>E. coli</i> em concentração inicial de 10 ⁷ UFC/mL, com aplicação de ozônio em pressão ambiente.	82
Figura 55 -	Experimentos utilizando de forma conjugada O ₃ + UV sem embalagem com concentração inicial de 10 ⁷ UFC / mL e não variação de pressão	83
Figura 56 -	Esterilização na autoclave multifuncional de 17 L utilizando o O ₃ como envelope de segurança para autoclave	84

Figura 57 - Esterilização com embalagem utilizando o O ₃ com a utilização de baixo vácuo antes do processo de esterilização	85
Figura 58 - Lâmpada de baixa pressão de mercúrio.....	85
Figura 59 - Caracterização da lâmpada UV (OSRAM) e a sua capacidade de emissão.....	86
Figura 60 - Medida das intensidades na autoclave de 21 L e a destruição da luz em toda a extensão do equipamento, a caixa preta representa a faixa que se encontra as disposições das lâmpadas em relação aos pontos medidos.....	87
Figura 61 - Medida da intensidade dentro do casco da autoclave de 17 L variando as posições dos pontos e variando o eixo de rotação, a caixa preta representa de maneira aproximada do posicionamento das lâmpadas de UV no casco em relação aos pontos de medidas.....	88
Figura 62 - Gráfico demonstrativo referente ao consumo energético <i>versus</i> ciclos, comparando os ciclos de UV, O ₃ e UV + O ₃ com a tensão em 110V sem a utilização da embalagem de autoclavagem.	89
Figura 63 - Gráfico de caracterização do consumo energético da autoclave multifuncional de 17 L na tensão de 220 V de funcionamento sem a utilização da embalagem de autoclavagem	90
Figura 64 - Dados de comparação entre um ciclo de funcionamento de esterilização da autoclave 21 L Cristófoli em comparação com os ciclos da autoclave multifuncional	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Normas de regimento para os modelos de autoclaves com maior aplicação odontológica.....	26
Tabela 2 - Descrição dos produtos químicos autorizados pelas agências internacionais para a utilização de equipamentos odontológicos e os tempos necessário para exposição.	32
Tabela 3 - Agentes oxidantes elaborados segundo o potencial para oxidar	43
Tabela 4 - Características físico-química do ozônio em CNTP.	43
Tabela 5 - Organização experimental para os testes realizados na autoclave 21 L.	64
Tabela 6 - Características do funcionamento do medidor de pressão absoluto <i>Freescale</i>	74
Tabela 7 - Informações da lâmpada germicida da OSRAM contidas no <i>datasheet</i> do produto	86

SUMÁRIO

1	Introdução.....	23
1.1	Conceitos gerais.....	23
1.2	Autoclaves.....	25
2	Conceitos básicos de esterilização de térmica, ultravioleta (UV) e ozônio (O ₃)..	29
2.1	Aplicação de luz ultravioleta para esterilização microbiológica	35
2.2	Utilização do ozônio (O ₃) como agente esterilizante	42
2.3	Aplicação de técnica UV-Ozônio contra agentes microbiológicos.....	46
2.4	Aplicação da técnica térmica como agente esterilizantes	48
2.5	Objetivos	49
3	Materiais e métodos.....	51
3.1	Protótipo multifuncional na Autoclave de 21 L.....	52
3.2	Protótipo multifuncional na Autoclave de 17 L.....	57
3.3	Validação microbiológica no protótipo da autoclave multifuncional de 21 L.....	64
3.4	Validação microbiológica no protótipo estabelecido para o uso da autoclave multifuncional de 17 L	66
3.5	Procedimento de caracterização do consumo energético e intensidade luminosa.....	69
3.6	Uso da plataforma tríplice.....	72
3.7	Sistema de geração de baixo vácuo no interior da autoclave de 17 L	73
4	Resultados e discussões	77
4.1	Resultados das análises microbiológica na autoclave 21 L (sem vácuo)	77
4.2	Radiação ultravioleta (U.V).....	77
4.3	Ozônio	78
4.4	Radiação ultravioleta (U.V).....	80
4.5	Análise microbiológica na autoclave 17 L (Com vácuo)	83
4.6	Caracterização dos dispositivos mecânicos para a utilização do Ultravioleta (UV)	85
4.7	Consumo energético dos ciclos de esterilização	89
5	Considerações finais e conclusões.....	93
6	Perspectivas futuras	95
	Referências.....	97

1 Introdução

1.1 Conceitos gerais

A problemática de infecção cruzada (transferência de micro-organismos de uma pessoa (ou objeto) para outra pessoa resultando necessariamente em infecção) é uma das maiores preocupações atualmente, em que é relacionada sérias consequências e complicações advindas a problemas de saúde da humanidade, a prevenção é a utilização do calor úmido sendo assim este trabalho vem corroborar com uma nova concepção para este grave problema de saúde pública.

Pois o método utilizado limita alguns tipos de utilização e a alternativa é por métodos químicos no qual se tem as vantagens da eliminação dos agentes patogênicos e desvantagens dos problemas ambientais gerados, pois demanda um cuidado na utilização tendo uma atenção com os aspectos ambientais devido à dificuldade para eliminação e a limpeza de resíduos presentes nos materiais.

Com isso o mercado de equipamentos médicos no Brasil sofreu influência ao longo dos anos por políticas de saúde adotadas nas décadas de 80 com uma maior mercantilização dos equipamentos (equipos) e com uma influência do setor público juntamente com o privado para diminuir a defasagem tecnológica brasileira aos constituintes de origem estrangeira elevarem os custos.¹

Está conjectura de capitalização dos bens de consumos englobando os bens fixos possibilitou um novo campo exploratório, impulsionando assim as indústrias brasileiras, que iniciaram as prospecções, e uma ampla atuação com o acompanhamento das tendências do mercado mundial e um crescimento econômico da mesma.

A abertura para este novo setor econômico brasileiro influenciou na inserção e desenvolvimento de maneira direta os produtos relacionados as áreas odontológicas, instrumentais e materiais como também para produtos que é construído com partes eletromecânicas. Devido a inclusão dos atendimentos odontológicos nos sistemas de saúde pública como o aparelho de raio-x sendo implementado nos atendimentos do Sistema único de saúde (SUS).¹

Devido a esta abertura para a produção nacional de equipamentos médico-odontológicos – de maneira exponencial no início dos anos 90 -, juntamente com a crescente preocupação causadas pelas doenças infectocontagiosas, estão surgindo métodos de segurança para os profissionais de saúde e pacientes.

Independentemente do tipo de procedimento realizado, podendo ser simples ou complexo, ambos podem carregar uma carga microbiana. Estudos sobre a qualidade dos ambientes odontológicos tem demonstrado que estes locais contêm uma alta carga microbiológica de patógenos em ambientes médico-odontológico.

Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) relatam que 25% dos pacientes que recebem tratamento odontológico são contaminados com microrganismos após procedimentos como lavagem com jatos do tipo spray e utilização do aparato instrumental em contato com o corpo do paciente. Estes instrumentos podem disseminar os microrganismos, por água, ar ou contato podendo assim gerar a transmissão de doenças para a equipe de profissionais e pacientes.²

Com base em um estudo realizado nos EUA, dentre as 970 profissões que estão presentes no banco de dados oficial Norte Americano de profissões, o *Occupation Information Network*, realizou-se um levantamento ponderando os pontos de periculosidade, numa escala que vai de 0 a 100 para se determinar os maiores riscos de perigo contidos conforme cada característica de cada profissão.³

O autor do estudo *Bussiness Inside*, avaliou três fatores que são considerados como periculosidade, e na classe da Odontologia os quesitos foram, exposição a contaminantes que obteve 84 pontos na escala, exposição a doenças e infecções que teve um valor de 74 pontos e por último o tempo de permanência sentado que obteve o valor de 64 pontos na escala. Com estes pontos posicionou em primeiro lugar os dentistas como sendo a mais perigosa área de atuação tendo em posições inferiores diversas outras profissões como médicos, engenheiros de processos ambientais e manipuladores de materiais radioativos.⁴

A exposição a contaminantes é de grande interesse dos órgãos internacionais, devido ao surgimento na década de 80 de doenças transmitidas por vírus, como a AIDS (síndrome da Imunodeficiência Adquirida – “*Acquired*

immunodeficiency syndrome”) ou hepatite outro grande problema por exemplo a hepatite C que é assintomática, todas as comunidades de saúde entraram em estado de alerta máximo sobre o perigo real de transmissões das doenças infectocontagiosa e sua periculosidade, sendo assim todas as agências reguladoras atacaram de forma veemente os problemas relacionados as chamadas contaminações, e foram criados mecanismos de controle e diminuição da exposição ao perigo.

Além da AIDS, outras doenças também tiveram as atenções voltadas quanto a periculosidade do profissional da área de Odontologia, com a Hepatite do tipo B e C, Papiloma vírus humano, Tuberculose, Sarampo, Herpes Zoster, Conjuntivite Herpética, Herpes Simples, Catapora, Rubéola, Pneumonia, e com entendimento devido ao aumento de pesquisas relacionadas a susceptibilidade destas doenças para com os profissionais de saúde bucal sendo que ficou evidente que na taxa de 6 -13 vezes maior é o risco em sofrer algum tipo de infecção provinda das doenças descritas acima por estes profissionais.⁵

Assim no ano de 1992 o Brasil adere às exigências interpostas pelos órgãos internacionais, instruindo que após todo o procedimento realizado no consultório odontológico é preciso fazer o processo de esterilização dos materiais utilizados como descrito pela atual resolução da diretoria colegiada RDC nº15, de 15 de março de 2012.⁶

Estas contaminações podem ser classificadas de diversas formas, mas a maioria delas acontece de forma cruzada (contaminação que acontece entre no mínimo dois elementos). Um dos elementos leva material biológico de forma não controlada a outro, causando um crescimento microbiológico indesejado.⁷

1.2 Autoclaves

Devido à grande variedade dos instrumental dental um dos obstáculos encontrados nos consultórios odontológicos, é a utilização das autoclaves em que não pode submeter todos os tipos de instrumentos ao processo de esterilização,

entretanto existem algumas categorias e classificações de exigência de diferentes funcionalidades e aplicações (Tabela 1):

Tabela 1 - Normas de regimento para os modelos de autoclaves com maior aplicação odontológica.

	Modelos	Norma
Autoclave	Tipo B	EN 13060
	Tipo S	NBR 17665
	Tipo N	NBR 17665

Fonte: Elaborada pelo autor.

Autoclave tipo B: Para o funcionamento deste modelo faz-se necessário a aplicação de uma bomba a vácuo para retirada do ar de dentro da câmara, antes de realizar o processo de esterilização.⁸

Para a produção do pré-vácuo dentro da câmara a bomba retira de forma de pulsos a saída do ar conjuntamente com o aumento da temperatura até atingir o vácuo desejado (Figura 1), para não oxidar alguns tipos de materiais e uma maior garantia na esterilização.

Figura 1 - Ciclo de esterilização de uma autoclave com funcionamento do tipo B.
Fonte: SPLABOR.⁹

Autoclave tipo S: é especialmente projetado para reprocessar artigos específicos, não necessitando da utilização de embalagens protetoras para o processo de autoclavagem e não se aplicando a utilização de vácuo.¹⁰

Autoclave tipo N: O funcionamento deste tipo de autoclave é realizado sem a necessidade da retirada do ar de dentro da câmara, trabalhando assim com a pressão positiva.¹¹

Neste caso não tem a variação de pressão de forma negativa do processo somente o aumento da temperatura em conjunto com o aumento da pressão (Figura 2), seguindo o que é determinado pela legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sobre o processo de esterilização.

Figura 2 - Binômio (Pressão x Tempo), de um funcionamento de uma autoclave tipo N em seu ciclo de funcionamento.
Fonte: AUTOCLAVES...¹¹

Assim sendo, para resolver problemas como o desenvolvimento tecnológico nacional de equipamentos médicos-odontológicos e considerando a incidência de doenças infectocontagiosas como um problema de saúde pública, durante o desenvolvimento desse estudo foi projetado equipamento de esterilização e de bloqueio microbiológico foram realizados de provas de princípios do mesmo.

2 Conceitos básicos de esterilização de térmica, ultravioleta (UV) e ozônio (O₃).

Para o controle da contaminação cruzada em instrumentais ou materiais recorre-se a métodos físico ou químicos de eliminação e baixa probabilidade de crescimento microbiana, estes métodos são chamados de esterilização ou desinfecção (depende do protocolo empregado e a taxa de eliminação), para o perfeito entendimento das diferenças destes processos foi explicitado abaixo a característica de cada qual:

- **Desinfecção:** É o processo físico ou químico que destrói os microrganismos causadores de doenças, porém não elimina as formas esporuladas das bactérias.¹²

- **Esterilização:** É o processo físico ou químico no qual destrói ou elimina de forma total qualquer tipo de vida microbiana até mesmo as formas esporuladas que apresentam a capacidade de se manterem em condições adversas na forma esporulada.¹²

A grande diversidade dos materiais com diferentes constituições químicas presentes nos equipamentos odontológicos, necessita-se de diferentes processos para eliminação dos agentes microbiológicos.

A literatura classifica em duas formas, os materiais termo resistentes que são aqueles materiais passíveis de autoclavagem, ou seja que suportem alta temperatura e pressão sem modificar suas características. Podemos enquadrar nesse grupo os materiais metálicos e os de teflon, como exemplo citamos pinças metálicas, brocas laminadas e as diamantadas (com algumas observações pertinentes), alicates de extração (fórceps), canetas de alta e baixa rotação (contra ângulo) mostrado na Figura 3, sonda, espelho, cabo de bisturi, sugador (metálico ou teflon), bandejas (metálicas ou teflon).

Figura 3 - Exemplos de canetas contra ângulo de alta e baixa rotação, atualmente pode aplicar o processo de autoclavagem.

Fonte: DOTAMED...¹³

Os instrumentos que envolvem precisão tais como os alicates (Figura 4) quando são expostos aos processos de calor saturado e alta pressão altera de forma mais rápida o perfil do corte (precisão de corte), necessitando uma constante calibração para se ter a mesma qualidade durante o trabalho.

Figura 4 - Modelos de alicates cutículas de unha passíveis de autoclavagem, mais perde a sensibilidade de corte.

Fonte: DOTAMED...¹³

As brocas (Figura 5) utilizadas nos consultórios são passíveis de autoclavagem quando o equipamento possui o sistema de auto vácuo assim evitando a oxidação do material, caso contrário aplica-se outros métodos.²

Figura 5 - A-) Brocas odontológicas diamantadas; B-) Brocas laminadas de metal.
Fonte: DOTAMED...¹³

No entanto existe alguns tipos de equipamentos nos quais não é possível à aplicação dos métodos físicos, mas sim, agentes químicos (Tabela 2) cuja a escolha do agente químico depende da necessidade (qual microrganismo possivelmente está presente) e do tipo de material a ser desinfetado.

Tabela 2 - Descrição dos produtos químicos autorizados pelas agências internacionais para a utilização de equipamentos odontológicos e os tempos necessário para exposição.

Nome Químico	Fórmulas	Tempo de exposição (min)
Glutaraldeído (1%)		30
Formaldeído (4%)		30
Peróxido de Hidrogênio (6%)		30
Hipoclorito de Sódio (0,5%)		30
Álcool Etílico (70%)		10*
Clorexidina (0,2%)		30

*Fazendo a fricção no artigo durante 10 minutos com pano esterilizado.

Fonte: CONSELHO...²; BLOCK.²; 14

Os materiais nos quais se aplicam agentes químicos são instrumentos plásticos como exemplo afastador bucal (Figura 6), periféricos eletrônicos como fotopolemerizador, laser.

Figura 6 - Utilização de um modelo do afastador bucal durante um procedimento odontológico e como tem o contato direto com o paciente sem nenhum tipo de proteção.

Fonte: PINZAN et al.¹⁵

Porém o tempo de permanência em agentes químicos necessário para ser considerado um procedimento de esterilização é deixar imerso na solução desinfetante por um tempo de até 24 horas no mínimo, tempo menor que este não tem promove a eliminação dos esporos caracterizando assim como um processo de desinfecção. O Conselho Federal de Odontologia (CFO), criou um quadro (Tabela 3) descrevendo de maneira mais detalhadas os instrumentos com os procedimentos a serem feito após a utilização dentro dos consultórios.²

Tabela 3 - Descrição completa presente no manual distribuído pelo conselho federal de odontológica sobre os equipamentos e quais procedimentos adotados para esterilização ou desinfecção dos artigos.

ARTIGOS	Auto-clavação/ vapor não ¹	Calor Seco	Óxido de etileno	Gluta- raldeído 2%	Formal- deído alcoólico 8%	Formaldeído aquoso 1%
Lâmina de corte	não ¹	sim	não	não	não	não
Serras	não ¹	sim	não	não	não	não
Brocas	não ¹	sim	não	não	não	não
Agulhas ocas	sim	sim	não	não	não	não
Seringa de vidro	sim	sim	não	não	não	não
Seringa de plástico	sim ²	não	sim ³	não	não	não
Agulhas de sutura	sim	sim	não	não	não	não
Fios: seda, algodão, linha, nylon	sim	não	não	não	não	não
Fios de aço	não	sim	não	não	não	não
Roupas ⁵	sim	não	não	não	não	não
Luvas	sim	não	sim	não	não	não
Cateteres, drenos e tubos de:	sim	não	sim	sim	sim	sim
• Borracha	sim	não	sim	sim	sim	sim
• Nylon	sim	não	sim	sim	sim	sim
• Teflon	sim	não	sim	sim	sim	sim
• PVC	sim	não	não	sim	sim	sim
• Polietileno	não	não	sim	sim	sim	sim
Vidros	sim	sim	não	não	não	não
Marcapasso	não	não	sim	não	não	não
Cabos elétricos ⁴	não	não	sim	não	não	não
Cabos/fibra ótica	não	não	sim	não	não	não
Enxerto acrílico	não	não	sim	sim	não	sim
Vaselina, óleos, cera e pós	não	sim	não	não	não	não
Inst. Cirúrgico	sim	sim	não	sim ⁶	sim ⁶	sim ⁶

Fonte: CONSELHO ...²

- 1- Exceto nas autoclaves de alto vácuo;
- 2- Somente plásticos termoresistente;
- 3- Exceto os que houverem sido esterilizados por raio gama;
- 4- Apenas aquelas conectadas com materiais críticos;
- 5- Somente aquelas utilizadas nas áreas críticas;

6- Somente os termolábeis ou que sofreram contaminação pelo manuseio;

Para a esterilização superficial tem-se outras possibilidades de técnicas físicas, como a aplicação de luz ultravioleta (UV) e químicas, como a utilização do gás ozônio (O₃).¹⁶

2.1 Aplicação de luz ultravioleta para esterilização microbiológica

De maneira simplificada temos que todos os objetos nos quais vemos e suas respectivas cores é resultado de um processo de reflexão, esta etapa é o resultado da interação da luz branca com os materiais e o que não é absorvido pelo material é refletido e nossos olhos captam e envia em formas de sinais para o cérebro, cujo resultado desse processamento é a visualização das cores, formas, matérias, objetos e tudo o que está em nossa volta neste mundo.

Mas as cores e luzes que enxergamos são compostas de ondas eletromagnéticas que se fragmentam em uma parte que tem o caráter elétrico e a outra parte com caráter magnético, mas o ser humano é capaz de enxergar somente uma pequena parte destas ondas, a chamada de luz visível.

Para um entendimento conciso foi proposto um espectro de onda eletromagnética com todas as faixas existente, quantificando de forma organizada (Figura 7), ao lado esquerdo da luz visível está a faixa pertencente a radiação ultravioleta e ao lado direito a faixa do infravermelho, atentando para o fato que ocorre o aumento da energia do fóton conforme diminui o comprimento da onda, assim a região de ultravioleta contém mais energia em relação a região visível.

Figura 7 - Espectro de luz em toda a faixa desde raios gama até ondas de rádio passando pela luz visível.
Fonte: CARVALHO.¹⁷

A faixa de luz ultravioleta (UV) na região do espectro contém uma variação no comprimento de onda que é de 100 – 400 nm, e dentro desta faixa é categorizado como UV-vácuo, UV-A, UV-B e o UV-C e a região considerada nociva para os microrganismos são as faixas do UV-C que varia de 200 – 280 nm (Figura 8).

Figura 8 - Espectro ampliado detalhando os diferentes comprimentos de onda da luz UV variando de 100 - 400 nm
Fonte: Elaborada pelo autor.

Mais especificamente a literatura nos mostra que a radiação do UV aplicada para a eliminação de microrganismos está inserida na faixa de 200 – 300 nm.¹⁶ Olhando mais atentamente para os efeitos da luz UV sob os materiais genéticos que compõe as estruturas do DNA dos microrganismo em que tem danos significativos para o DNA encontra-se na faixa entre 240 – 265 nm.¹⁸

A radiação ultravioleta causa alguns tipos de lesão dependendo da banda de radiação se é UV-A, UV-B ou UV-C, e seus processos variam conforme o tipo de emissão envolvendo um mecanismo de reação extremamente complexo.

Um dos pontos no qual ocorre a efetiva morte dos microrganismos é o fato de que os fótons emitidos são absorvidos e criados fotoprodutos que são direcionados para dois compostos a piridina e as bases dos ácidos nucleicos da pirimidina.

O entendimento dos complexos mecanismos de reação envolvendo o UV e todos os fotoprodutos pode ser explicado da seguinte forma; os fótons emitidos pela luz UV induz a formação de fotoprodutos no DNA, em particular a formação do dímeros de ciclobutano pirimidinas (DCP) e pirimidina 6-4 de fotos-produtos pirimidona.¹⁸

Figura 9 - Fotoprodutos de DNA primário causado pela ação do UV-C e também UV-B: dímeros de ciclo butano pirimidina (DCP) (a) Fotoprodutos de esporos (FE) (b) Pirimidina 6 - 4 Fotoprodutos pirimidina (6-4PFP) (c) 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina.
 Fonte: GAYÁN; CONDÓN; ÁLVAREZ.¹⁸

A formação da Pirimidina 6 – 4, de Fotoprodutos pirimidina (6 – 4 PFP) favorece mais a mutação dos microrganismos do que quando se tem a formação de dímero ciclo butano pirimidina (DCP), fato é que a inativação microbiológica depende muito da resistência específica de cada microrganismo e a capacidade dos mecanismos de reparação presentes.

No entanto, para microrganismo de forma esporulada o resultado não é a formação convencional dos dímeros de pirimidina (6-4) como mostrado acima, mas o único tipo de processo é timinil-timina com a formação de fotoprodutos de esporos (FE). Este fato decorre devido ao metil (CH₃) ligado ao carbono 4 perder um átomo de hidrogênio (H) se tornando um radical que se liga com o outro carbono da estrutura e não como ocorre no estado vegetativo que se tem as ligações dos metil e carbono-carbono (Figura 10).¹⁹

Timina monomerização

Fotoproduto do esporo

Figura 10 - Timina monomerização é a formação do fotoproduto na fase vegetativa dos microrganismos; fotoproduto formado no esporo pela ação da luz UV-C.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Mas a formação dos dois dímeros em um monômero de pirimidina causa distorção estrutural no DNA molecular atrapalhando a transcrição no caso quando temos um RNA e no caso da replicação do DNA, por conseguinte o não correto funcionamento dos processos ocasionado pelo fotoproduto leva a morte da célula.¹⁹

Porém os microrganismos contêm um mecanismo de defesa quando se tem algum tipo de mutação não desejada em suas estruturas básicas, no qual este processo é a correção ou a regeneração de quando se é formado os fotoprodutos. Isso danifica as fitas de DNA (Figura 11), se a taxa de regeneração deste dano for menor que a formação do fotoproduto o processo de transcrição e ou replicação não ocorre, o que leva eventualmente a mutação da célula e em seguida a morte.¹⁸⁻¹⁹

Figura 11 – Exemplificação do dano gerado pela luz ultravioleta quando é absorvida pela fita de DNA
Fonte: SINHA; HADER ²⁰

Para que cause um dano no funcionamento dos sistemas de transcrição ou replicação aplicasse o comprimento de onda da região do UV-C.

A aplicação da luz ultravioleta no processo de eliminação de microrganismo ocorre por duas vias uma de forma não controlada que é através da radiação emitida pela luz solar e a segunda forma que é controlada cuja o uso é de lâmpadas que produzem a faixa desejada de radiação UV.

De maneira geral a constituição destes aparatos é via lâmpadas de mercúrio (Figura 12) de baixa pressão interna e nas suas paredes tem-se a temperatura por volta de 40 ° C com um arco de energia de aproximadamente 0,3 V/cm² e a pressão de vapor é em torno de 7×10^{-3} Torr e sua emissão é de aproximadamente 85% do total de emissão luminosa com o comprimento de onda próximo de 254 nm.¹⁶

Figura 12 - Desenho esquemático da lâmpada germicida ultravioleta.
Fonte: MEDEIROS.¹⁶

As aplicações da utilização das lâmpadas estão ganhando espaço nas áreas de produção industrial, como exemplo podemos citar a indústria alimentícia.

Na produção de produtos *in natura* como por exemplo morangos e framboesas, ocorre uma contaminação prejudicial ao ser humano por contaminantes como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*, estes microrganismos causam problemas sérios à saúde humana podendo causar até a morte, fazendo-se necessário a descontaminação dos produtos sem alterar as características físico-químicas (organolépticas) do produto final em relação ao inicial, umas das alternativas é a utilização da luz ultravioleta de maneira pulsada e controlada.²¹

As embalagens de produtos consistem em um sistema de necessária atenção para que não ocorra a recontaminação do seu conteúdo por microrganismos. Neste contexto, é ampla a utilização de luz UV para descontaminação.²²

Conseguido uma outra aplicação é para meio líquidos para a esterilização de suco de frutas evitando assim o tratamento térmico que modifica de alguma forma as propriedades físico-químicas do suco²³ e também na aplicação durante a produção de vinho ou suco de uva promovendo a inativação dos microrganismos.²⁴

Algumas das aplicações ocorre o desenvolvimento de novos equipamentos e concepções e amplia as aplicações para a indústria farmacêutica, médica e odontológica devido a característica de multiaplicabilidade do método.

2.2 Utilização do ozônio (O₃) como agente esterilizante

O gás ozônio é apresentado de maneira geral na literatura como um dos propulsores no problema relacionado ao efeito estufa da terra, pois ele tem um papel importante na proteção dos raios cósmicos enviado pelo sol.

Mas com o passar dos anos a molécula de ozônio (O₃) foi sendo estudada e muito se descobriu e interpôs diversas aplicações em diferentes interesses tanto nas áreas aplicadas a atmosfera como também para utilização industrial, uma das áreas mais promissoras e de vasta possibilidade de aplicação é na utilização do mesmo como agente esterilizante.

Pois em temperaturas ambiente e atmosfera padrão este agente encontra-se em forma de gás com uma forma ressonante como mostrado na Figura 13.

Figura 13 - Estrutura química do ozônio e sua forma mais comum presente no meio ambiente.
Fonte: SILVA et al.²⁵

Devido a sua estrutura com elétrons livres que potencializa algum tipo de indução ou reação química, com a variação de potencial entre diferentes átomos de oxigênio, o gás ozônio é considerado o segundo maior agente com poder de oxidação ficando somente atrás da molécula flúor (Tabela 3). É uma substância

instável e parcialmente solúvel em água, tendo um odor característico da molécula sendo facilmente detectável mesmo em baixas concentrações e sua coloração é incolor em baixas concentrações e quando se tem altas concentrações assume um tom próximo do azulado.²⁵⁻²⁶

Tabela 3 - Agentes oxidantes elaborados segundo o potencial para oxidar

Agente oxidante	Potencial de oxidação (mV)
Flúor	3,06
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,67
Dióxido de cloro	1,50
Hipoclorito	1,49
Cloro	1,36

Fonte: SILVA et al.²⁵

Outros aspectos da característica é que o tempo de meia vida (tempo para redução da metade do valor da concentração inicial) do ozônio em solução aquosa é de 165 min à temperatura de 20°C, já sua presença no ar é estável tendo o tempo de meia vida de aproximadamente de 12 horas em condições normais de temperatura e pressão.²⁷ As características físico-químicas do ozônio são:

Tabela 4 - Características físico-química do ozônio em CNTP.

Propriedades físico-químicas	
Massa molar	48 Da
Massa específica (0°C e 101,3 kPa)	2,154 kg/m ³
Ponto de ebulição	-111,9 ± 0,3 °C
Ponto de fusão	-192,5 ± 0,3 °C
Solubilidade em água a 0°C	20 g/m ³
Solubilidade em água a 30°C	1,5 g/m ³
Temperatura crítica	-12,1 °C
Pressão crítica	5,53 MPa

Fonte: SILVA et al.²⁵

O mecanismo antimicrobiano do gás ozônio ocorre devido o processo de oxidação de grupos sulfidrilas e amino ácidos de enzimas, peptídeos e pequenos grupos de peptídeos. Neste primeiro processo o O_3 ataca o envelopamento insaturado dos lipídeos tendo uma quebra das ligações celulares.²⁸

Outro mecanismo de ataque é via a oxidação de gorduras poli-insaturados quebrando as ligações sem especificidade acarretando um dano as estruturas dos microrganismos.²⁹

A disfunção gerada pelo ataque oxidativo não selecionado tem-se uma ação na membrana semipermeável do microrganismo em questão ocorrendo também uma combinação da oxidação dos ácidos ribonucleicos no interior do núcleo ou do citoplasma. Com a ruptura da parede celular e difusão a molécula no interior das células dos seres vivos ocasiona interferência nas atividades celulares.³⁰

Como oxida os constituintes básicos ocorre uma interferência a nível energético no metabolismo, devido a inativação das enzimas e a competição com os substratos de enzimas, fatores estes que ocorrem de forma conjugada quando se tem a exposição de células dos seres ao gás.³¹

Consequentemente sabemos que nas bactérias gram-negativas o ozônio ataca as lipoproteínas e pilo-sacarídeos em que a destruição destes constituintes resulta no aumento da permeabilidade ocasionando uma quebra celular. A resistência do microrganismo a este agente oxidante é advinda da constituição estrutural da parede celular que contém múltiplas camadas conferindo-a maior resistência.³²

Para a obtenção artificialmente do gás ozônio (O_3) pode-se advir de dois processo distinto um é por utilização óptica (Figura 14) com a utilização de fontes de luz ultravioleta com o comprimento de onda 184,9 nm em que o oxigênio absorve os fótons que quebram as ligações entre eles tornando-os átomos reativos para formação de ozônio.³³

Figura 14 - Esquemática da formação de ozônio via a utilização de luz UV.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A outra possibilidade de produção do ozônio é através do efeito corona (diferença de potencial - DDP) em que consiste em um fluxo de oxigênio passando por um sistema (Figura 15) que gera uma diferença de potencial transformando-o em o gás requerido.²⁷

Figura 15 - Esquemática da produção de ozônio pela diferença de potencial – DDP
Fonte: Elaborada pelo autor.

A formação via o efeito corona segue a seguinte relação:

Sabe-se que a temperatura não interfere na esterilização quando é empregado o ozônio e quando se tem o aumento do pH potencializa a sua eficiência (a variação do pH é o efeito para aplicação em meios líquidos, por exemplo tratamento de efluentes). A grande característica para o emprego do ozônio é sua flexibilidade de aplicação podendo ser utilizado em diferentes tipos de superfície.

Como exemplo temos na literatura aplicação do gás ozônio para a descontaminação de superfícies que será utilizada produtos *in natura* como peixes, carnes, verduras, ovos com procedimentos de controle da deterioração causada por agentes microbiológicos presentes garantindo assim uma maior vida de prateleira e segurança aos produtos alimentícios.³⁴

Outro ponto que é amplamente utilizada é no tratamento de efluentes em que a utilização deste gás potencializa a desinfecção e eliminação de matéria orgânica presente no fluido com uma maior economia em comparação a utilização de outros tipos de agentes químicos.³⁵

Também se está pensando na descontaminação de ambientes cirúrgicos, em que a elevada carga microbiana presente e a dificuldade de acesso em pontos mortos da sala leva-se a aplicação de um gás devido sua fácil aplicação em geometrias de difícil acesso como por exemplo canto de paredes, conexões.²⁶

Outro ponto é por ser tratar de um agente químico com fácil processo de produção e fácil eliminação evitando a geração de resíduos que ocasiona problemas ambientais e preocupações pós-utilização, que geralmente ocorre com o emprego de outros produtos químicos para o mesmo fim.

2.3 Aplicação de técnica UV-Ozônio contra agentes microbiológicos

A utilização tanto da luz ultravioleta como do ozônio como agente esterilizante, tem sido, estudado e verificado novas aplicações para o seu uso, como na utilização na área de saúde, a descrição na literatura mostra-nos através do ciclo de Sidney-Chapman os seguintes aspectos.³⁶

Equação descreve o ciclo de Sidney – Chapman:

Formação do ozônio temos:

Dissociação do ozônio temos:

Como mostrado acima os comprimentos de onda entre 240 a 320 nm da luz ultravioleta tem a capacidade de quebrar a ligação triatômica do ozônio gerando um radical de oxigênio altamente reativo e com o poder oxidativo, e por essa capacidade reativa tende severamente atacar compostos orgânicos com a reação de oxidação, um dos processos fundamentais e conhecidos em algumas substâncias orgânicas, assim o ataque deste átomos (oxigênio) em compostos lipídicos, proteicos presentes nas cadeias básicas das células dos microrganismos sofrem transformações de suas características básicas alterando-as suas características primárias (como exemplo estrutural do microrganismo), pois estas reações não ocorrem de forma específica e controlada.²⁹

Durante a aplicação nas superfícies vias atmosferas modificadas com UV-Ozônio em sistemas fechado (salas específicas) a radiação ultravioleta catalisa a esterilização acelerando o processo de oxidação do ozônio conjuntamente com a formação de fotoprodutos dentro das células em questão.

Uma geração de O_3 eficiente e constante é realizada sem a presença de outros constituintes do ar atmosférico (p.ex. nitrogênio) intensifica a interação trinomial de luz-ozônio-matéria, efeito este que pode ser produzido através da implantação de um sistema que gere um baixo vácuo.

Outro ponto para se atentar é que este método ataca de todas as formas descritas na literatura a inativação dos agentes patogênicos não tendo seleção de quais tipos de células irão resistir a tal processo. Não gera resíduos de difícil eliminação e quando se faz o devido processo de eliminação do ozônio residual (p.ex catalisador inorgânicos) não gera nenhum tipo de dano ambiental, a luz ultravioleta não tem nenhum tipo de resíduo gerado somente o consumo energético para o seu funcionamento.

2.4 Aplicação da técnica térmica como agente esterilizantes

O controle microbiológico via métodos térmicos iniciou a muitos anos atrás quando *Louis Pasteur*, desenvolveu um método binário (tempo/tempo) para o controle de agentes prejudiciais ao ser humano o denominado processo de pasteurização amplamente utilizado no setor industrial.

Com o passar dos tempos o foco de aplicação e as técnicas para tal começaram a se expandir, desenvolvendo-se novos tipos de protocolos e procedimentos para o controle microbiológico, atualmente nas áreas relacionadas a odontologia e medicina o método mais difundido é a utilização do calor úmido para esterilização de instrumentos utilizados no decorrer dia a dia do profissional.

Método este que é conhecido como autoclavagem que decorre de aplicação de vapor saturado com um tempo de aplicação nos equipamentos do qual desejasse a eliminação dos agentes biológicos.

A aplicação destas técnicas vem se desenvolvendo de forma veementemente a algumas poucas décadas, o sistema de autoclavagem é constituído por uma câmara de sistema fechado em que o vapor da água aquecido por resistências externa aquece-as transformando a água do estado líquido no estado gasoso, é realizado até atingir certas temperaturas para a morte de microrganismos.³⁷

A letalidade dos agentes biológicos para este tipo de processo obedece básica um gráfico em que temos a parte exponencial de morte dos microrganismos, a fase estacionária para morte que se matem constante a letalidade e por último um decaimento na força de eliminação microbiana (Figura 16).

Figura 16 - Curva teórica de morte microbiana por método térmico

Fonte: BRAGANTE.³⁸

De acordo com a Norma NBR 9804 para esterilização a temperatura descrita é de 121°C com a pressão de 110 KPa e para temperatura de 127°C a pressão tem que corresponder a 150 KPa, e no caso de instrumentação cirúrgicas o recomendado é a exposição direta por 12 minutos de vapor a uma temperatura de 121 °C, no entanto no dia a dia aplica-se um tempo maior garantindo assim a esterilidade.³⁷

2.5 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo geral o desenvolvimento de um protótipo de uma autoclave multifuncional com o funcionamento de três plataformas térmica, UV e ozônio e com as opções de funcionamento térmico, UV, ozônio e conjugado UV mais ozônio tendo todo o desenvolvimento dos sistemas de controle, elétrico, mecânico e químico para o funcionamento do equipamento, e uma opção que possibilite a realização de um baixo-vácuo no mesmo projeto.

Realizou as provas de princípios para os procedimentos de esterilização do protótipo com testes microbiológicos, caracterização do projeto e medidas do consumo energético.

3 Materiais e métodos

No desenvolvimento deste trabalho utilizou-se dois modelos de autoclave: o primeiro modelo tem o volume útil de utilização de 21 L (Cristófoli, Modelo *Vitale* 21 litros Plus) como mostrado na Figura 17; o segundo modelo utilizado tem o volume útil de 17 L e foi a base para o protótipo final (parte interna), o modelo empregado foi uma autoclave da empresa Bio-Art modelo elite como é mostrada na Figura 18.

Figura 17 - Autoclave da Cristófoli utilizada nos testes iniciais
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 18 - Modelo de autoclave da Bio-Art utilizada como versão final de protótipo.
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.1 Protótipo multifuncional na Autoclave de 21 L

A primeiro acessório da constituição do equipamento foi a escolha de um gerador de ozônio comercialmente disponível e com o princípio de funcionamento por efeito corona (diferença de potencial em um fluxo de oxigênio), contendo as seguintes características:

Tabela 6 - Dados técnicos retirados do manual do gerador de ozônio

Gerador de ozônio (O ₃)	
Marca/Tipo	Enaly / OZ-3ON
Fluxo de saída de ozônio	100 mg/h
Pressão Máxima	0,05 atm
Vazão	2 L / min

Fonte: Elaborada pelo autor.

O equipamento conta com um gerador de ozônio integrado a uma bomba, mangueiras de silicone e a um filtro que é utilizado para desumidificação do ar de entrada e apresenta uma ponta constituída de pedras para difusão do fluxo de saída -opcional o uso- (Figura 19).

Figura 19 - Gerador de ozônio dentro da caixa mostrando os equipamentos embutidos, tais itens são: 1) caixa de geração de ozônio; 2) Mangueiras de silicone; 3) Difusores de fluxo; 4) Filtro para retenção dos componentes do ar.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a aplicação da luz ultravioleta utilizou-se lâmpadas germicidas (HNS – 4W – Osram) com os reatores eletrônicos de 4 pinos bivolt (Luxxel). Primeiramente, foi projetado as alterações iniciais no casco da autoclave com as aberturas de forma equidistantes sendo posicionadas duas na parte frontal e as outras duas próximas ao fundo (Figura 20).

Figura 20 - Imagem exportada do projeto feito no software Inventor (2016) no casco da autoclave de 21 L mostrando as aberturas para o encaixe das janelas de proteção e contra vazamento.

Fonte: Elaborada pelo autor.

No projeto das janelas foram utilizados chanfros internos para um perfeito encaixa das placas de quartzo.

Após o termino da manufatura das janelas e protetores para as lâmpadas de UV, realizou-se a montagem no casco para o funcionamento do ultravioleta colocando vedações líquidas entre as janelas e o suporte e entre janelas e casco, assim evita-se o vazamento de fluidos com pressão positiva de trabalho, na cabeça dos parafusos foi colocado orings de viton , as lâmpadas foram fixada pelo lado de fora para a fixação na parede (Figura 21).

Figura 21 - Foto da lâmpada pronta colocada o quartzo, parafusos e vedantes; A-) Janela fixada na parede do casco; B-) Lado de fora da autoclave e a fixação das lâmpadas de UV com o protetor; C-) Imagem panorâmica interna da autoclave com suas janelas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Seguidamente fez a montagem do sistema de fluxo do ozônio com conectores rápidos de ar comprimido e mangueira de plásticos. Para o controle inseriu válvulas selóindes de 110 V de 2 vias (Thermoval, Brasil) perfazendo a composição com o sistema de controle e a possibilidade de seleção do escoamento durante o funcionamento das opções da multifuncionalidade da autoclave neste caso calor úmido ou ozônio (Figura 22).

Figura 22 - Montagem do sistema de fluxo do ozônio e suas conexões; A-) Foto mostrando como é feita as conexões e o posicionamento das válvulas solenoides na autoclave; B-) Sistema do gerador de ozônio conectado no tubos de escoamento.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para funcionar o sistema criou-se de forma manual uma caixa de botões para acionar os dispositivos controlando o caminho do fluxo de ozônio nesta configuração construtiva (Figura 23), nesta etapa contou-se com apoio do Laboratório de Apoio Tecnológico (AT).

Figura 23 - Painel de controle dos mecanismos de funcionamento da autoclave de 21 L; 1) Liga/Desliga todas às funções da autoclave; 2) Liga/Desliga UV; 3) Entrada/Saída do gás ozônio no casco; 4) Refluxo seleciona do fluxo do ozônio contido no casco; 5) Liga/Desliga bomba de fluxo ozônio; 6) Liga/Desliga o gerador de ozônio.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O funcionamento dos detalhes deste painel pode ser melhor expressado descrevendo a funcionalidade de cada item, mostrado na figura acima, assim temos que:

- 1) Ligar / Desliga todas as funcionalidades da autoclave;
- 2) Liga/Desliga a lâmpada de UV;
- 3) Válvulas de controle de entrada ou saída do gás dentro do casco;
- 4) Selecionar a direção de fluxo do O_3 contido no casco com a opção de ida para o catalisador (é uma tubulação maior e com uma alta perda de carga) ou deixar o fluxo no sentido de aumentar a concentração do gás ozônio (Tubulação menor do sistema ligado direto no gerador);
- 5) Liga/Desliga a bomba de fluxo do gerador de O_3 ;
- 6) Liga/Desliga o gerador de O_3 ;

Abaixo está a figura da versão do protótipo nde autoclave multifuncional com o volume de 21 L de utilização (Figura 24).

Figura 24 - A-) Todo a constituição eletromecânica do sistema de funcionamento multifuncional da autoclave de 21 L; B-) Imagem da autoclave em funcionamento com a luz-ultravioleta
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2 Protótipo multifuncional na Autoclave de 17 L

Para o desenvolvimento do protótipo final que foi entregue para a empresa Bio-Art a mesma foi necessário a utilização da autoclave elite 17 L, inicialmente devido as dimensões menores. Redesenhou a distribuição e a locação das janelas a serem colocadas (Figura 25).

Figura 25 - Imagem retirada do Software Inventor do projeto para inserção das janelas contendo quartzo com uma moldura de alumínio.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Afim de melhorar o desempenho, substituiu-se o gerador de ozônio, aumentando a capacidade de geração do gás ozônio e a tensão de funcionamento de 220 V, em que temos os seguintes aspectos:

Tabela 7 - Dados retirado das informações do fabricante referente ao gerador de ozônio da marca Blue Ocean.

Características do gerador de ozônio (O₃)	
Marca/Modelo	<i>Blue Ocean / Bo-22010 qnaon</i>
Potência de saída	95W
Tensão de entrada	AC 200 V- AC 240 V
Fluxo de saída (Oxigênio)	12 g / h

Fonte: Elaborada pelo autor.

O gerador de ozônio é composto por uma fonte que a tensão necessária para a geração do gás, um botão regulador de tensão (opcional o uso) e uma tubulação para a passagem do escoamento (Figura 26).

Figura 26 - Foto do gerador de ozônio e suas partes; 1) Tubulação de fluxo do gás ozônio; 2) Fonte geradora de tensão para o funcionamento; 3) Botão regulador da tensão gerada no fluxo (controle da geração da concentração).

Fonte: Elaborada pelo autor

A parte da luz UV continuou sendo utilizada as lâmpadas germicida da OSRAM de 4 W com os mesmos reatores mostrados anteriormente.

As janelas foram adaptadas algumas medidas que relaciona o raio de contato devido a variação do volume do projeto, a disposição foi realizada de forma que se circunda na totalidade o casco de forma equidistantes entre as aberturas das janelas e centralizada no ponto central da autoclave, para a vedação aplicou-se vedante líquido para trabalho a alta pressão e temperatura de trabalho entre a janela de alumínio o contato entre as janelas e o casco colocou-se orings especialmente adaptados. Tendo possibilidade de trabalho em pressão positiva e negativa, os parafusos optaram por material antioxidantes e um ajuste fino colocou *orings* apropriados entres as cabeças dos parafusos e parte externa da janela o material deste é *viton* resistente as variações de temperatura (Figura 27).

Figura 27 - Imagem das janelas instaladas internamente no casco e o funcionamento dentro da autoclave de 17

Fonte: Elaborada pelo autor.

A utilização de todas as funções propostas no projeto em questão projetou uma estrutura para dispor todos os constituintes da autoclave multifuncional e uma distribuição organizada dos componentes eletromecânicos, auxiliado pelo software inventor (Figura 28):

Figura 28 - Projeto da estrutura final e distribuição dos equipamentos da autoclave multifuncional desenhado no inventor.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nesta parte do projeto foi inserido um catalizador do gás ozônio e um filtro, para economia de espaço e fácil adaptação um suporte que integre as duas partes e fixando na parede posterior (Figura 29).

Figura 29 - Projeto no software inventor do sistema compondo o catalisador e o filtro.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Para os testes e apresentação neste trabalho a autoclave multifuncional foi pensada em um protótipo de ciclo fechado, em que o ar interno da autoclave é transformado em ozônio e decomposto em ar atmosférico (sem residual de ozônio) não havendo a inserção de ar externo para a câmara no processo e a pressão de trabalho é atmosférica, porém quando o processo ocorrer a necessidade de diminuição da pressão (pré-vacuo) ocorrerá recomposição do volume necessário para o funcionamento em pressão atmosférica.

Com a utilização do software DIA, foi desenvolvido todo o sistema de escoamento e seleção dos processos tendo o controle das válvulas básica para o funcionamento. A fFigura 30 apresenta a diagramação do processo funcionando na pressão normal.

Figura 30 - Digrama do projeto da autoclave multifuncional sem a utilização do baixo vácuo, e todo o sistema de escoamento pertencente e controle e automação projetada.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Por se tratar de um sistema de difícil manuseio devido ao grande número de variáveis e controle de válvulas, fez-se necessário a automação do instrumental deixando-o automatizado e com uma tela seletora para o ciclo desejado. Juntamente com o Laboratório de Apoio Tecnológico (LAT), programou a diagramação de controle utilizando um Controle Lógico Programável (CLP) da marca Dakol modelo JZ20-J-R31 sw 11 saídas (Figura 31).

Figura 31 - Foto do CLP da marca Dakol modelo JZ20-J-R31 sw 11 saídas utilizado na automação do projeto.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O modelo da bomba utilizada foi do tipo pistão (Figura 32) com as seguintes características:

Tabela 8 - Dados da bomba peristáltica utilizada neste projeto

Características da bomba de vácuo	
Marca / Modelo	ZA.30CC / DVP
Pressão Absoluta	150 mbar
Tensão	12 V
Corrente	3 A

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 32 - Bomba a vácuo utilizada no sistema, imagem de seu acoplamento na autoclave.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Instalada na saída superior da autoclave a conexão de entrada e a conexão de saída disposta na válvula seletora para direcionar o fluxo quando necessário para o catalizador ou filtro.

3.3 Validação microbiológica no protótipo da autoclave multifuncional de 21 L

Para a avaliação da eficiência do equipamento foi realizada a quantificação do número de micro-organismos antes e depois de exposto as variáveis testadas (Ozônio, UV e Ozônio + UV), para isso foi realizada a contaminação de placas contendo poços de 1cm de diâmetro com a inserção de 100 µL do meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI) contendo concentração maior que 10^6 UFC/mL de *E. Coli* (ATCC – 25922), depositada no fundo das placas multipoços não gerando biofilme e submetido aos processo de esterilização/descontaminação (Figura 33)

Figura 33 - Depósito da *E. Coli* nas placas multipoços de orifícios dentro do fluxo para os testes de esterilização.
Fonte: Elaborada pelo autor.

As amostras utilizadas no processo de esterilização para autoclave a partir de placas contaminadas com *E. coli* foram:

Tabela 5: Organização experimental para os testes realizados na autoclave 21 L.

Amostras para testes	Condição	Tempo de exposição (min)
Grupo controle	Envelopados com embalagens para esterilização	0; 60; 120; 180; 240;
Grupo Ozônio		
Grupo controle	Sem as embalagens para esterilização	0; 10; 20; 30;
Grupo UV		
Grupo Ozônio		
Grupo Ozônio + UV		

Fonte: Elaborada pelo autor.

Ao término do tempo de exposição (Tabela 5) das placas nas condições citadas acima, foi coletado dos poços o Swab em triplicata (Figura 34) e as amostras advinda foram plaqueadas no meio de cultura sólido *Brain Heart* e incubado em estufa incubadora (B.O.D.) à 37°C por 24 horas após a incubação foi realizada a contagem de colônias. Para o cálculo da quantidade de unidade formadora de colônia (UFC/mL), aplicou o seguinte equacionamento:

$$\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} = \frac{\text{CP} \times \text{FD}}{\text{VAT}} \quad (2)$$

Em que:

CP = Colônia contato por placa;

FD = Fator de diluição;

VAT = Volume de amostra tomada (mL).

Todos os experimentos foram realizados em ocasiões distintas e em triplicata e feito a média de colônia por placa (CP) e o cálculo do desvio padrão da contagem, realizando assim o cálculo tendo o resultado de UFC/mL.

Figura 34 - Semeadura dos microrganismos no meio sólido em uma placa petri.
Fonte: Elaborada pelo autor

3.4 Validação microbiológica no protótipo estabelecido para o uso da autoclave multifuncional de 17 L

A determinação do tempo de esterilização dos agentes biológicos para a autoclave de 17 L, seguiu-se os tempos determinados anteriormente realizado na autoclave de 21 L. Para o posicionamento de placas de quartzo que simula instrumentos e uma quantidade maior de amostras por experimento realizado. Assim confeccionou uma estrutura metálica resistente (Figura 35), passando de 3 amostra para 5.

Figura 35 - Estrutura para posicionar as placas de quartzo durante os testes sem embalagem de esterilização.
Fonte: Elaborada pelo autor.

A disposição das amostras é no centro de gravidade do equipamento, percorrendo equidistantemente todo o volume da autoclave, de maneira que haja uma possibilidade de avaliar em todos os pontos os procedimentos de descontaminação/esterilização (Figura 36).

Figura 36 - Posicionamento das amostras dentro da autoclave para os testes de esterilização.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Buscando uma maior padronização nos experimentos e para um perfeito encaixe no suporte mostrado acima, foram feitas placas (30 × 40 mm) de quartzo para realização de todos os experimentos, sendo que este material não absorve a faixa de UV de trabalho. O processo de contaminação das placas de quartzo foi realizado por imersão em solução em meio estéril em fluxo laminar, contendo o micro-organismo (*E. Coli* ATCC – 25922) em concentração inicial maior que 10^6 UFC/mL. Para a quantificação de micro-organismos antes e após o procedimento foi realizado a contagem pelo método de unidades formadoras de colônia. (Figura 37).

Figura 37 - Esquematização experimental para contaminação da superfície por imersão a seta indica o movimento realizado dentro do fluxo: 1-) Placa de quartzo; 2-) Tubo falcon; 3-) Fluido contendo os microrganismo em concentração inicial maior que 10^6 UFC/mL.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Após a contaminação das placas de quartzo, sem ou em embalagens de grau cirúrgico, em fluxo laminar para evitar qualquer tipo de contaminação cruzada ou interferência do meio externo, encaminhou-as dentro de Placas petri esterilizadas e fechadas até a autoclave para realização dos testes. Após a finalização do ciclo da autoclave, as placas foram inseridas em placas de Petri estéreis e levado até o fluxo laminar para realização do esfregaço na amostra em triplicada (Figura 38).

Figura 38 - Procedimento de coleta dos microrganismos nas placas após procedimentos de esterilização. Em azul é a placa de quartzo (transmite a luz UV), em preto o *swab* para a coleta em vermelho o sentido do esfregaço para retirada de amostras; foram realizadas 3 vezes a coleta em todos os lados da placa e emplacado em triplicata.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a realização da coleta nas superfícies das placas, foi aberto pelo lado da haste a embalagem que contém o swab estéril no momento da coleta, assepticamente. O swab foi comprimido contra as superfícies perfazendo movimento laterais assim coletando os materiais contido nas placas. A coleta foi feita em triplicata e na sequência foi realizada a semeadura em placas de petri (Figura 34).

As placas de petri foram colocadas em estufa com temperatura controlada de 37 °C por um período de 24 horas foi realizada a contagem de colônias e realizado o cálculo a partir da equação 2. Assim para entender melhor a sequência experimental foi descrito na figuraFigura 39 a metodologia de contaminação e descontaminação microbiológica utilizando a autoclave.

Figura 39 - Sequência da metodologia experimental para certificação da esterilização dos métodos: 1) placa mergulhada em tubo falcon contendo MO; 2) Embalagem ou proteção para levar até a autoclave multifuncional; 3) Ciclo de esterilizações UV, O3 e O3 + UV (C/ vácuo e S/ vácuo; 4) plaqueamento em triplicata e com cinco amostras; 5) estufa por 24 horas a 37 °C e contagem das colônias.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.5 Procedimento de caracterização do consumo energético e intensidade luminosa

Para a quantificação do consumo energético utilizou um multímetro para medir a corrente (Figura 40).

Figura 40 - Multímetro medindo a corrente elétrica consumida pela autoclave multifuncional

Fonte: Elaborada pelo autor.

A medida é mensurada na entrada da fonte e a corrente reativa em unidade ampere (A) que é consumida durante o funcionamento do ciclo da autoclave, nos processos de ultravioleta (UV), ozônio, ozônio e UV. Para quantificar os dados utilizou o cálculo da potência com a seguinte equação:

$$P = I \times V \quad (3)$$

- P = Potência (W)
- I = Corrente (A)
- V = Voltagem (V)

Afim de calcular o consumo energético por ciclo encontrando através da potência, aplicou a seguinte equação:

$$C = P \times Ci \quad (4)$$

- C = Consumo energético (kWh);
- P = Potência (P);
- Ci = Tempo necessário para esterilização (h);

Para a caracterização interna do casco da autoclave e a determinação da intensidade das lâmpadas ultravioletas dentro do equipamento utilizou o mesmo modelo de fibra conectado no espectrômetro (*Ocean Optics* USB 2000+UV-vis) com a variação de leitura de 200-850 nm com o tempo de integração 1 ms – 65ms (Figura 41), cujo sua aplicação foi a medição dos valores das intensidades das lâmpadas como foi mostrada anteriormente.

Figura 41 - Espectrômetro da *ocean optics*, utilizando para a medida da intensidade
 Fonte: Elaborada pelo autor.

Fazendo a varredura em posições distintas no centro de massa do casco em quatro posições diferentes (Figura 42), circundando-a de forma integral o casco. A representação na figura indica as posições e os nomes escrito para análise dos dados.

Figura 42 - Esquematisação do casco da autoclave e o ponto vermelho representa a localização aproximada da medida da intensidade, as setas são os sentidos em que as foram realizadas e os nomes dados nos resultados
 Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a análise estatística coletou-se 3 vezes cada ponto e calculou o desvio padrão de cada ponto que circundou a autoclave. A mensuração por todo o corpo foi

feita em pontos equidistantes, o ponto 1 foi medido na borda, o ponto 2 foi medido na metade da peça e o ponto 3 foi medido no fundo da peça.

Figura 43 - Pontos de coleta da intensidade dentro do casco da autoclave, medidas feitas no ponto 1 (frontal); 2 (meio); 3 (fundo) sendo equidistantes.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Para a caracterização real da lâmpada mediu-se ao longo da lâmpada três pontos diferentes. Um ponto é do lado esquerdo, outro no centro e o terceiro do lado direito (Figura 44), a fibra foi colocada junto a superfície de quartzo da lâmpada.

Figura 44 - Esquematização das posições para a medição do poder luminoso da lâmpada utilizada no protótipo
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.6 Uso da plataforma tríplice

O funcionamento da autoclave é controlado por um controlador lógico programável (CLP) ou PLC (*programmable Logic Controller*), em que se determinou todos os parâmetros de funcionamento internamente possibilitando uma interface com o usuário comum (Figura 45).

Figura 45 - Imagem frontal do CLP com os seguintes itens: 1-) Botão de confirmação do processo; 2-) Visor dos ciclos e seleção; 3-) Entrada para configuração; 4-) Botão de confirmação da ação; 5-) botão de escolha do ciclo; 6-) Cancelamento do ciclo.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Neste protótipo temos os seguintes métodos embutidos e programados no CLP, é o funcionamento do Ultravioleta (UV), ozônio (O₃), O₃ e UV. O funcionamento do sistema de calor úmido é controlado separadamente pelo dispositivo disposto originalmente na autoclave.

3.7 Sistema de geração de baixo vácuo no interior da autoclave de 17 L

A utilização do baixo vácuo neste protótipo não ouve a automação sendo feito de maneira independente do sistema de processo de esterilização, para a retirada da massa de ar do interior da autoclave utilizou-se a bomba (Figura 46) AITCOOL - VP230 ND - com potência de 1/3 HP e vácuo de 3×10^{-1} Pa.

Figura 46 - Bomba a vácuo utilizada para retirada do ar de dentro da câmara
 Fonte: Elaborada pelo autor.

Para o controle e aferição da variação da pressão interna utilizou o medidor de pressão *freescall* (Tabela 6) semicondutor da marca NPX modelo MPX5100, com as seguintes características:

Tabela 6 - Características do funcionamento do medidor de pressão absoluto *Freescall*.

Características	Variáveis
Variação de medição	0 até 100 kPa
Tensão de saída	0,2 até 4,7 V
Máximo erro	2,5%
Temperatura de Trabalho	0 até 85°C

Fonte: Elaborada pelo autor.

A montagem de medição utilizou um multímetro (marca fluke 115) conectado as saídas dos sensores conectados a um capacitor para evitar alguma influência durante aquisição do sinal (Figura 47)

Figura 47 - Esquematização experimental para a medida de pressão e a sua constituição básica
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os dados de saídas fornecido pelo multímetro é a tensão em que é correlacionada os dados medidos com o gráfico (Figura 48) para a determinação do valor em pressão absoluta.

Figura 48 - Gráfico para medida de pressão no interior do casco relacionando a tensão com a medida de pressão.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Assim temos que a configuração construtiva para os testes tendo a possibilidade de montagem do vácuo e sendo controlado manualmente (Figura 49).

Figura 49 - Foto da configuração do protótipo para os testes iniciais aplicando o vácuo antes da utilização do sistema de O_3 .

Fonte: Elaborada pelo autor.

4 Resultados e discussões

4.1 Resultados das análises microbiológica na autoclave 21 L (sem vácuo)

Como resultado deste estudo além da construção de protótipos utilizando o UV, ozônio e estes associados UV / ozônio foi realizada a prova de princípio certificando a eficiência e o estabelecimento do uso destes após estudos realizados no laboratório de Biofotônica do grupo de Óptica (IFSC-USP). Para ilustrar aplicações típicas dos equipamentos intrinsecamente seguros foi classificado as aplicações de acordo com o tempo necessário de exposição do UV, ozônio e UV / ozônio.

4.2 Radiação ultravioleta (U.V)

Inicialmente, foram realizados os testes aplicando a luz UV nas placas de orifícios sem a embalagem de grau cirúrgico afim de compreender o mecanismo e tempo de morte, os resultados obtidos estão expressos na Figura 50.

Figura 50 - Cinética de morte utilizando o ciclo de ultravioleta (UV) com uma concentração inicial de 10^6 de *E. Coli* sem a utilização do vácuo.

Fonte: Elaborada pelo autor

A concentração inicial de micro-organismos era de 6 na escala log, e os resultados nos mostra que nos primeiros 10 minutos não houve uma redução perceptível de morte, já no tempo de 20 min caiu de 6 para 3 log₁₀ de (UFC/mL).

Em 10 minutos de exposição das placas contaminadas com 6 log₁₀ UFC/mL em UV não houve redução do número de micro-organismos. Já em 20 e 30 min. foi verificado uma redução de 3 logs, o que representa uma redução de 99,9999%.

Provavelmente, quando estimulada com este tipo de radiação, as moléculas celulares podem sofrer transições eletrônicas por ocasião da absorção de energia quantizada. A radiação UV pode provocar um processo complexo associado a reações químicas e morfológicas, na qual pode formar espécies reativas de oxigênio, causando alterações celulares de diferentes gravidades dependendo do tempo de exposição. As células microbianas podem ter absorvido a radiação UV e sofrido alterações químicas devido a essa absorção. O DNA é uma das principais moléculas que absorve a radiação UV e, assim sofrer mutações que podem resultar em transformações que causam a morte do micro-organismo.²⁰

4.3 Ozônio

A caracterização de morte dos micro-organismos utilizando o ciclo do gás ozônio foi realizada primeiramente sem a utilização da embalagem para a compreensão do tempo de morte. A Figura 51 mostra os resultados iniciais da cinética de morte dos micro-organismos em uma placa de orifícios durante 30 min.

Figura 51 - Cinética de morte utilizando o gás ozônio sem embalagem com a concentração inicial de *E. coli* de 10^7 , sem a utilização da embalagem e contaminação nas placas multiplacas.

Fonte: Elaborada pelo autor

Com a determinação da cinética de morte foi possível observar uma redução microbiana de 5 log₁₀s que representa 99,999% UFC/mL. A ação efetiva do ozônio como agente de descontaminação é comprovada com a diminuição do número de micro-organismos com o aumento do tempo de exposição da bactéria patogênica ao ozônio. O ozônio é um gás que possui propriedades oxidantes, sendo assim podendo ser utilizado como um desinfetante causando a oxidação das células microbianas. O ozônio vem sendo usado principalmente para ação desinfetante em micro-organismos na água. Diversos estudos demonstraram que ele destrói esporos, fungos, amebas, vírus, bactérias.³⁴ Tem sido relatado que o ozônio apresenta efeito bactericida e que essa inativação apenas ocorre uma concentração crítica de ozônio.

Embalagens em papel grau cirúrgico permeável ao vapor e impermeável a micro-organismos é utilizada em procedimentos de esterilização por autoclaves. O uso da embalagem evita a recontaminação dos materiais a serem utilizados em procedimentos odontológicos. Os resultados utilizando o ozônio para descontaminação de placas em embalagem são mostradas na figura Figura 52.

Figura 52 - Teste de esterilização com ozônio embalado em papel de grau cirúrgico com a concentração inicial de 10^7 de solução de *E. coli*

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados acima mostram que mesmo com a embalagem houve uma diminuição de 3 log₁₀ na quantidade inicial de micro-organismos, o que significa uma redução de 99,9% UFC/mL em um tempo de 4 horas do procedimento. Resultados da análise microbiológica na autoclave 17 L (sem vácuo).

4.4 Radiação ultravioleta (U.V)

Com base nos resultados preliminares obtidos no protótipo da autoclave de 21 L, foram feitos os testes de descontaminação variando os tempos de exposição de luz dentro da autoclave modelo de 17 L obtendo os resultados demonstrados na Figura 53.

Figura 53 - Teste de compreensão da taxa de morte de microrganismos na autoclave 17 L, com concentração inicial de 10^7 UFC/mL.

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados descritos acima mostram que no tempo de 10 e 20 minutos de exposição com a UV não ocorre um nível acentuado de morte de micro-organismo sem alteração significativa na escala logarítmica na base 10 de UFC/mL. Já com o tempo de 30 min houve uma grande redução microbiana após o procedimento.

Com base nos resultados preliminares obtidos no protótipo da autoclave de 21 L, fez-se também os testes de descontaminação variando os tempos de exposição ao ozônio dentro da autoclave modelo de 17 L obtendo os resultados demonstrados na Figura 54:

Figura 54 - Experimento utilizando placas de quartzo contaminadas com *E. coli* em concentração inicial de 10^7 UFC/mL, com aplicação de ozônio em pressão ambiente.

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados acima corroboram com a discussão realizada anteriormente em relação ao gerador de ozônio e a sua variação com a capacidade de geração do gás, pois anteriormente (Figura 51) no tempo de 30 minutos não houve esterilização do material contaminado. No entanto, esta nova configuração construtiva proporcionou o aumento da concentração de ozônio com o tamanho reduzido da autoclave, resultando assim em uma maior eficiência do equipamento com menor tempo de funcionamento.

Consequentemente assim, houve a potencialidade do método com o uso destes (UV e ozônio) realizados de forma conjugada, sendo que os resultados são mostrados abaixo:

Figura 55 - Experimentos utilizando de forma conjugada O₃ + UV sem embalagem com concentração inicial de 10⁹ UFC / mL e não variação de pressão
 Fonte: Elaborada pelo autor

No mesmo tempo de 30 minutos houve uma redução de 9 log₁₀ (99,9999999 %) da UFC/mL, porém nos tempos de 10 e 20 minutos as barras de variação apresentaram valores negativos, quando houve a contagem nas placas observamos que algumas placas não ocorreram crescimento de colônias e em outras houve o crescimento. Uma das hipóteses que podemos levantar é sobre a quantidade de amostras feitas nesse experimento que foi 5 com plaqueamento em triplicata tendo um total de 15 amostras, a tendência que quando aumentar o número de repetições do processo e o aumento dessas amostras a variação diminuía não tendo essa característica.

4.5 Análise microbiológica na autoclave 17 L (Com vácuo)

Devido a não efetiva esterilização com a embalagem utilizando o sistema funcionando a pressão positiva fez necessário testes microbiológicos utilizando o sistema de vácuo obtendo uma inicial compreensão do funcionamento e o mecanismo de morte.

Figura 56 - Esterilização na autoclave multifuncional de 17 L utilizando o O₃ como envelope de segurança para autoclave

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados mostram que não houve morte microbiana nas placas de quartzo contaminadas e embaladas com envelope de segurança indicado. Sendo assim, fez-se um experimento usando um baixo valor de pressão (1×10^{-1} bar). Após esta etapa inseriu o gás de O₃ dentro da câmara da autoclave até atingir a pressão ambiente, seguidamente ligando a circulação interna conforme descrito no processo sem a utilização de vácuo, em que o gás é continuamente passado pelo gerador e finalizado com a eliminação por um catalisador inorgânico não sendo jogado para o ambiente o resíduo. Os resultados estão demonstrados na Figura 57.

Figura 57 - Esterilização com embalagem utilizando o O₃ com a utilização de baixo vácuo antes do processo de esterilização

Fonte: Elaborada pelo autor

Nos primeiros testes realizados com vácuo sendo feito apenas a retirada do ar durante o tempo de um minuto e após injetar o O₃ dentro da câmara verificou em comparação ao resultado que houve uma oscilação, em que visualmente percebeu que em algumas placas tem um crescimento menor de micro-organismos em relação ao grupo controle. Com o ar removido pela formação de vácuo há a facilidade de penetração do ozônio nas embalagens, o que foi possível observar com a variação de micro-organismos visualizada na figura Figura 57.

4.6 Caracterização dos dispositivos mecânicos para a utilização do Ultravioleta (UV)

Para aplicação da luz-ultravioleta no processo de esterilização da autoclave multifuncional foram utilizadas lâmpadas OSRAM Puritec modelo HNS 4W (Figura 58).

Figura 58 - Lâmpada de baixa pressão de mercúrio.

Fonte: Elaborada pelo autor

Constituição interna da lâmpada é com gás de mercúrio com baixa pressão de funcionamento e as suas características de funcionamento são:

Tabela 7 - Informações da lâmpada germicida da OSRAM contidas no *datasheet* do produto

Voltagem nominal	29 V
Corrente Nominal	0,17 A
Corrente da lâmpada	0,17 A
Dados fotométricos	200 – 280 nm (UVC)
Diâmetro da lâmpada	16,0 mm
Comprimento	136,00 mm

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para o entendimento da potência que a lâmpada germicida tem de emissão fez-se a medida obtendo-se os seguintes resultados (Figura 59).

Figura 59 - Caracterização da lâmpada UV (OSRAM) e a sua capacidade de emissão.

Fonte: Elaborada pelo autor

O efeito do cálculo da intensidade é importante ponto para compreender qual o valor da dose empregada durante o período de tempo que está exposta a amostra, com isso verificamos que o valor médio de medida da intensidade da lâmpada de quartzo foi de 39 mW /cm².

Coletou-se três vezes a medida em cada posição do ponto (superior, direita, abaixo, esquerda) seta como indicado na figura 42, e prosseguiu o mesmo procedimento nos pontos 1, ponto 2 e ponto 3. Assim perfez o gráfico relacionando intensidade versus pontos de coleta.

A Figura 60, representada a autoclave de 21 L a configuração e distribuição da lâmpada foi feita de uma maneira diferente sendo duas lâmpadas posicionada ao fundo e duas posicionada a frente, devido sua profundidade ser maior em torno de 44 cm.

Figura 60 - Medida das intensidades na autoclave de 21 L e a destruição da luz em toda a extensão do equipamento, a caixa preta representa a faixa que se encontra as disposições das lâmpadas em relação aos pontos medidos.

Fonte: Elaborada pelo autor

O ponto 3 é o mais distante das lâmpadas e a luz chega com uma intensidade de aproximadamente 0,18 mW/cm² em todas as direções, o ponto 2 foi coletado no centro do casco e apresenta uma característica diferente dos outros pontos, as medidas do lado esquerdo tem um maior valor de intensidade que é de

aproximadamente 0,78 mW/cm², este valor é devido as distribuições das lâmpadas estarem na direção do ponto de medida.

No centro (ponto 2) a intensidade de luz UV entregue tem uma variação conforme o posicionamento de aquisição da intensidade, em média de aproximadamente 0,45 mW/cm². O ponto 1 observa-se uma dispersão da intensidade luminosa no interior da autoclave tendo uma média de média de aproximadamente 0,20 mW/cm².

A autoclave guardando as devidas proporções perfez as mesmas medidas, seguido os mesmos critérios da autoclave 21L.

Figura 61 - Medida da intensidade dentro do casco da autoclave de 17 L variando as posições dos pontos e variando o eixo de rotação, a caixa preta representa de maneira aproximada do posicionamento das lâmpadas de UV no casco em relação aos pontos de medidas

Fonte: Elaborada pelo autor

A distribuição das lâmpadas em torno do casco houve algumas alterações devido a diferença de comprimento nas autoclaves de 21 L para 17 L, detalhe que o diâmetro interno são aproximadamente 24 cm.

Está diferença no posicionamento das lâmpadas houve um aumento da intensidade na parte central da autoclave (ponto 2 de medida) que foi em torno de 40 %, este fato é explicado pela configuração das lâmpadas e a sua disposição, pois para a última versão do protótipo (17 L) concentrou-se a luz UV de forma menos

espaçada em relação a outra isto ocasionou um aumento da média da intensidade no centro do instrumento.

4.7 Consumo energético dos ciclos de esterilização

A avaliação do consumo energético foi necessária para o entendimento do gasto para realizar a esterilização. No início foi caracterizado os ciclos de esterilização contidos na autoclave de 21 L em seu funcionamento na voltagem de 110V.

Figura 62 - Gráfico demonstrativo referente ao consumo energético *versus* ciclos, comparando os ciclos de UV, O₃ e UV + O₃ com a tensão em 110V sem a utilização da embalagem de autoclavagem.
Fonte: Elaborada pelo autor

A figura Figura 62 nos mostra que neste caso utilizando as configurações argumentadas anteriormente e os testes realizados evidenciou que o ciclo utilizando o ozônio tem o maior consumo energético.

Tendo como base o funcionamento de 8 ciclos verificou-se que o consumo energético no ciclo de ozônio é aproximadamente 17 % maior em relação ao ciclo de UV e 58 % maior em comparação com o ciclo de O₃ + UV, fato interessante é que quando se utiliza a junção dos dois métodos temos um consumo energético menor em relação aos outros métodos.

Está percepção é mostrada no gráfico, fato é que a atuação conjugada do O_3 e UV é favorecida quimicamente e ocorre uma diminuição no tempo necessário para esterilizar.

A configuração da construção da autoclave multifuncional de 17 L forma observadas alterações em todos os aspectos, diminuição do volume, aumento da capacidade de geração de O_3 que passou de aproximadamente 5 ppm para maior que aproximadamente 10 ppm e a tensão de funcionamento dos sistemas multifuncionais foi trocado de 110 V para 220V, assim temos que os seguintes aspectos energéticos explicitados na figura Figura 63.

Figura 63 - Gráfico de caracterização do consumo energético da autoclave multifuncional de 17 L na tensão de 220 V de funcionamento sem a utilização da embalagem de autoclavagem

Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados acima mostram-nos que o consumo energético em tais configurações teve um aumento de maneira acentuada nos ciclos envolvendo o gás O_3 , um fato a atentar é o aumento da capacidade de geração de ozônio gerado no interior da câmara. O comportamento tem-se uma modificação no consumo do ciclo que envolve ozônio + UV, o aumento com 8 ciclos feitos é de aproximadamente 159% em que passou de 0,139 kWh para 0,361 kWh.

Se fizermos a comparação com o processo padrão de esterilização e com a marca de maior mercado que é a Cristófoli temos que:

Figura 64 - Dados de comparação entre um ciclo de funcionamento de esterilização da autoclave 21 L Cristófoli em comparação com os ciclos da autoclave multifuncional
 Fonte: Elaborada pelo autor.

Os ciclos de esterilização das autoclaves funcionando no modo calor úmido tem um gasto muito mais elevado em comparação aos métodos sugeridos neste trabalho.

O ciclo de O₃ + UV que é o maior consumo em relação aos outros processos tem aproximadamente 71 % menos de consumo energético em relação ao processo de calor úmido.

5 Considerações finais e conclusões

Os resultados obtidos no primeiro modelo de autoclave de 21 L, demonstraram a potencialidade da utilização, pois foi alcançado resultados satisfatórios e uma compreensão referente ao processo e seu comportamento quando é aplicado em pequena escala em instrumentais e a configuração multifuncional.

Seguidamente a isso o protótipo final a qual houve uma transferência tecnológica para a empresa Bio-Art e um depósito de pedido de patente junto ao INPI no número BR 20 20160165941. Comprovou de forma inicial a características de esterilização que é desejável aos equipamentos aplicados as áreas de saúde, fato é que quando não se tem embalagens os resultados são muito expressivos. O catalisador utilizado durante os testes mostrou ser eficiente não tendo problema da quantidade de exposição ao ozônio.

A configuração e o desenvolvimento dos circuitos elétricos e mecânicos no qual constitui o equipamento está otimizado e o funcionamento é operado por qualquer que seja a pessoa em questão para testes ou mesmo maiores entendimentos sobre os mecanismos de morte.

O projeto inicialmente foi pensado e construído para o funcionamento de pressão positiva e não identificado qualquer tipo de vazamento para este processo sendo satisfatório e bastante compreendido, conseguiu-se sem alterações estruturais à diminuição da pressão interna e mantida sem vazamento no decorrer dos testes operando o mesmo em pressões baixas.

Assim sendo e conforme o cronograma de mestrado se pequeno para compreender todas as variáveis pertencente ao um projeto multidisciplinar, verifica a necessidade de continuidade em testes futuros para a determinação do protocolo de funcionamento da autoclave funcional com vácuo, fato é que os testes iniciais demonstraram que existem um potencial para esta aplicação devido aos primeiros resultados realizados.

Conforme foi pretendido o trabalho ofereceu uma concepção de uma nova plataforma para esterilização, propiciando uma nova ferramenta de aplicação em instrumentais de uso na saúde.

6 Perspectivas futuras

Para trabalhos futuros sugere-se a necessidade mais pertinente de um estudo mais aprofundado do catalisador que inicialmente utilizou óxidos descritos na literatura, mas com uma compreensão de forma quantitativa da capacidade de adsorção, tempo de vida e otimização.

Outro ponto é testes visando a certificação e comparação com os já exigidos pelas leis internacionais e nacionais de segurança e efetividade de esterilização do protótipo com diferenciação de geometrias em diferentes tipos de materiais.

Por fim um passo paralelo a pesquisa de prova de princípio é a otimização e montagem de uma linha de produção para um produto com base do protótipo aqui desenvolvido com todos os protocolos de funcionamento fechados e otimizações necessárias.

Referências

- 1 MANFREDINI, M. A.; BOTAZZO, C. Tendências da indústria de equipamentos odontológicos no Brasil entre 1990 e 2002: notas prévias. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 11, n. 1, p. 169-77, 2006.
- 2 CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. **Manual de biossegurança**. Rio de Janeiro: CFO, 1999. Disponível em: <http://cfo.org.br/wp-content/uploads/2009/09/manual_biosseguranca.pdf>. Acesso em 23 jan. 2016.
- 3 PATI, C. **As 15 profissões mais perigosas para a saúde**. Revista Exame. 2015. Disponível em: <http://www.brasilpost.com.br/2015/11/16/profissoes-mais-perigosas-para-a-saude_n_8574656.html>. Acesso em: 09 nov. 2015.
- 4 KIERSZ, A. **The 27 jobs that are most damage to your health**. 2015. Disponível em: <<http://www.businessinsider.com/the-most-unhealthy-jobs-in-america-2015-11>>. Acesso em: 09 dec. 2015.
- 5 FLAMINI, N. C. A. P. **A importância da biossegurança nos consultórios odontológicos**. 2009. Disponível em: <<https://dabiatlante.com.br/artigos/B-SAFE.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2016.
- 6 ANVISA. Redução do risco para a segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde. **Journal of Infection Control**, v. 4, n. 1, 2015. Disponível em: <<http://jic.abih.net.br/index.php/jic/article/view/124/pdf>>. Acesso em: 30 out. 2015.
- 7 PELCZAR JUNIOR, M. J. et al. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 1997
- 8 CLINICA MÉDICA DE IMPLANTOLOGIA. **Esterilização / segurança**. Disponível em: <<http://www.clinicaimplantologia.pt/sobre-a-cmi/seguranca-e-esterilizacao/>>. Acesso em: 21 fev. 2015.
- 9 SPLABOR Equipamentos para Laboratório. **Autoclave: saiba por que a ANVISA recomenda este equipamento para laboratório**. 2015. Disponível em: <<http://www.splabor.com.br/blog/autoclaves/autoclave-saiba-por-que-a-anvisa-recomenda-este-equipamento-para-laboratorio/>>. Acesso em: 10 jan. 2016..
- 10 SAMARANAYAKE, L. **Fundamentos de microbiologia e imunologia na odontologia**. São Paulo: Elsevier Brasil, 2012.
- 11 AUTOCLAVES. **Manual de instruções**. 2015. Disponível em: <www.cristofoli.com/index.php?route=product/product/download&downloadId>. Acesso em 30 out. 2015.
- 12 FRAISE, A. P.; LAMBERT, P. A.; MAILLARD, J.-Y. **Russell, Hugo & Ayliffe's principles and practice of disinfection, preservation & sterilization**. New York: John Wiley & Sons, 2008.

- 13 DOTAMED São João. **Equipamento médico-dentários**. Disponível em: <<http://dotamedsaojoao.com/>>. Acesso em: 15 jan. 2016.
- 14 BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 5th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- 15 PINZAN, A. et al. Proposta para a padronização das tomadas fotográficas intrabuciais, com finalidade ortodôntica. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Maxilar**, v. 2, n. 6, p. 63-68, 1997.
- 16 MEDEIROS, R. C. **Comparação da resistência de protozoários patogênicos-Giardia spp. e Cryptosporidium spp.-e de microrganismos indicadores à desinfecção sequencial cloro-irradiação ultravioleta e ozônio-irradiação ultravioleta**. 2010. 210 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- 17 CARVALHO, T. **Espectro eletromagnético**. 2006. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/fisica/espectro-eletromagnetico/>>. Acesso em: 23 jan. 2016.
- 18 GAYÁN, E.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I. Biological aspects in food preservation by ultraviolet light: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 1, p. 1-20, 2014.
- 19 FRIEDBERG, E. C. et al. **DNA repair and mutagenesis**. Washington: ASM Press, 2005.
- 20 SINHA, R. P.; HÄDER, D.-P. UV-induced DNA damage and repair: a review. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 1, n. 4, p. 225-236, 2002.
- 21 BIALKA, K.; DEMIRCI, A. Efficacy of pulsed UV - light for the decontamination of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella spp. on raspberries and strawberries. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 5, p. M201-M207, 2008. doi: 10.1111/j.1750-3841
- 22 ALEXANDRE, F. A.; FARIA, J. D. A. F.; CARDOSO, C. F. Evaluation of ultraviolet radiation in the sterilization of plastic packaging. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1524-1530, 2008.
- 23 KEYSER, M. et al. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 3, p. 348-354, 2008.
- 24 FREDERICKS, I. N.; DU TOIT, M.; KRÜGEL, M. Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines. **Food Microbiology**, v. 28, n. 3, p. 510-517, 2011.
- 25 SILVA, S. B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

- 26 GARCIA, C. A. et al. O gás ozônio na descontaminação de ambientes cirúrgicos. **Veterinária Notícias**, v. 14, n. 2, p. 37-40, 2009
- 27 DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. Métodos e técnicas de tratamento de água. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 11, n. 2, p. 107, 1993.
- 28 GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. Use of ozone in the food industry. **LWT-Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453-460, 2004.
- 29 SOLOMONS, T. W.; FRYHLE, C. B. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: LTC, 2006. v.1.
- 30 JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J.; BUSTOS, E. **Biología celular y molecular**. Chile: McGraw-Hill Interamericana, 1998.
- 31 AGUIAR, A. M. S. **Avaliação do emprego da radiação ultravioleta na desinfecção de águas com cor e turbidez moderada**. 2000. 114 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.
- 32 TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2009.
- 33 CALAWAY, M. J. et al. **Decontamination of genesis array materials by UV ozone cleaning**. Disponível em: <<http://ntrs.nasa.gov/archive/nasa/casi.ntrs.nasa.gov/20070003746.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2016.
- 34 KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.
- 35 MORAIS, J. L.; SIRTORI, C.; KUNZ, A. **Estudo da potencialidade de processos oxidativos avançados integrados a processos biológicos para tratamento de chorume de aterro sanitário**. 2003. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/abes22/tlxo.pdf>>. Acesso em 23 jan. 2016.
- 36 SANTOS, E. R. et al. Reator de UV-Ozônio com lâmpada a vapor de mercúrio a alta pressão modificada para tratamento superficial de óxidos transparentes condutivos utilizados em dispositivos poliméricos eletroluminescentes. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1779-1783, 2010.
- 37 NIEHEUS, R. C. **Autoclaves verticais**: uma proposta de sistema para garantia do processo de esterilização. 2004. 74 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004..
- 38 BRAGANTE, A. G. **Operação do processamento térmico em alimentos**. 2010. Disponível em: <<http://abgtecalim.yolasite.com/>>. Acesso em: 23 jan. 2016.