

SURFACE UV



RELATÓRIO

SURFACE UV NA DESCONTAMINAÇÃO DE SUPERFÍCIES

Resultados preliminares

Protocolos delineados e desenvolvidos por Natalia M. Inada e Thaila Q. Corrêa

Experimentos executados e analisados por Thaila Q. Corrêa

SÃO CARLOS

2016



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061



Procedimento Experimental #1

Com o auxílio de swabs esterilizados foi realizada a coleta de microrganismos de uma superfície com área de aproximadamente 100 cm² (10 cm x 10 cm). Após esta coleta aplicou-se o Surface UV, vagorosamente, por toda a região delimitada, por 60 segundos e, em seguida uma nova coleta foi realizada. Este procedimento foi executado em diversos ambientes, incluindo o laboratório de microbiologia e o consultório odontológico. Após esta coleta, os swabs foram agitados em vortex para despreendimento dos microrganismos. Em seguida, foram realizadas 3 diluições seriadas (1:10) em solução salina fosfatada (PBS), e alíquotas de 100 µL de cada diluição foram plaqueadas em duplicata em placas de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI). As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.

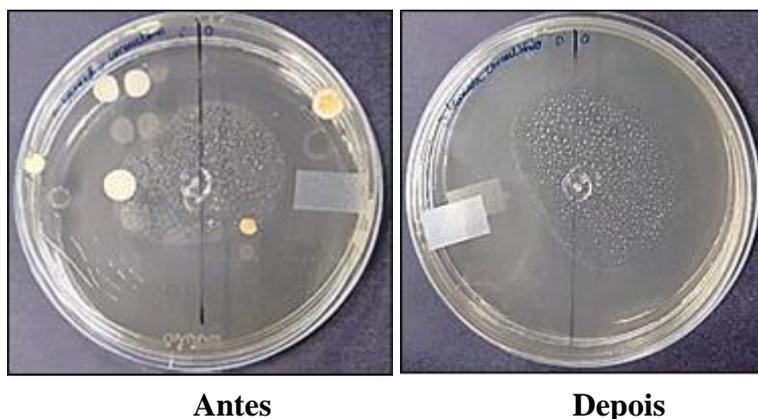


Figura 1. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV em bancada de consultório odontológico.

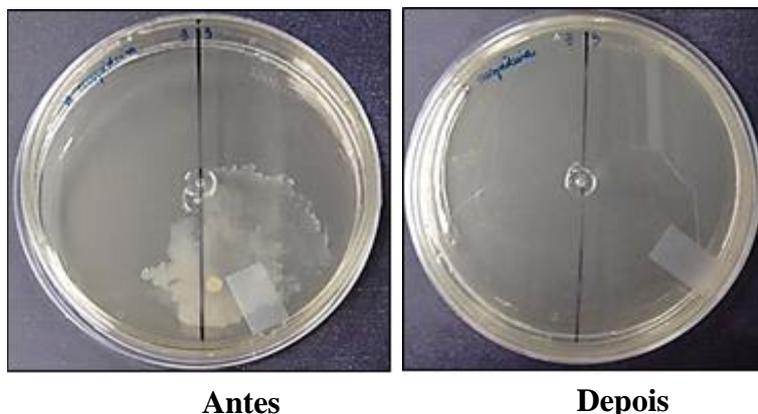


Figura 2. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV em cuspeira de consultório odontológico.



Observa-se nas Figuras 1 e 2 a ausência de crescimento de microrganismos após a aplicação do Surface UV, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação de bactérias e fungos de superfícies lisas, tais como bancada e cuspideira de consultório odontológico.

Procedimento Experimental #2

Com o auxílio de swabs esterilizados foi realizada a coleta de microrganismos de uma superfície com área de aproximadamente 100 cm² (10 cm x 10 cm). Os swabs foram passados diretamente de um lado da placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. Após esta coleta, aplicou-se o Surface UV, vagarosamente, por toda a região delimitada, por 60 segundos e, em seguida uma nova coleta foi realizada. Após esta coleta, os swabs foram passados diretamente do outro lado da mesma placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.

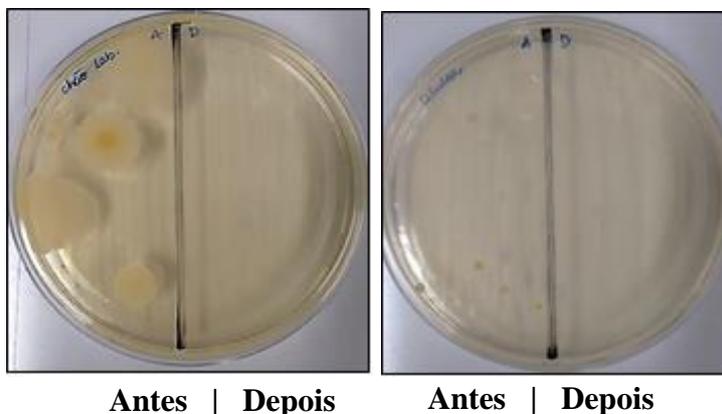


Figura 3. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV no chão do laboratório de microbiologia e em celular.

Observa-se na Figura 3 a ausência de crescimento de microrganismos após a aplicação do Surface UV, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação de bactérias e fungos encontrados nas superfícies estudadas.



Procedimento Experimental #3

Este experimento foi realizado com quantidades conhecidas das bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 - Gram-positiva) e *Escherichia coli* (ATCC 25922 - Gram-negativa) e do fungo *Candida albicans* (ATCC 90028). Amostras de *S. aureus* e *E. coli* foram cultivadas em caldo BHI (Brain and Heart Infusion) em estufa a 37°C por 24 horas sob agitação. Amostras de *C. albicans* foram cultivadas em ágar Sabouraud Dextrose em estufa a 37°C por 24 horas. Após o crescimento, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e resuspendidas em PBS. Os inóculos utilizados para o experimento foram de, aproximadamente, 10^7 UFC/mL. Em seguida, foram realizadas 5 diluições seriadas (1:10) de cada microrganismo em PBS, e alíquotas de 25 μ L de cada diluição foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI). O plaqueamento foi realizado em duplicata, para cada microrganismo, sendo o primeiro referente ao controle (antes da aplicação do Surface UV) e o segundo referente ao tratamento, no qual aplicou-se o Surface UV, vagarosamente, por toda a região da placa de Petri, por 60 segundos. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas para a realização das contagens das unidades formadoras de colônias.

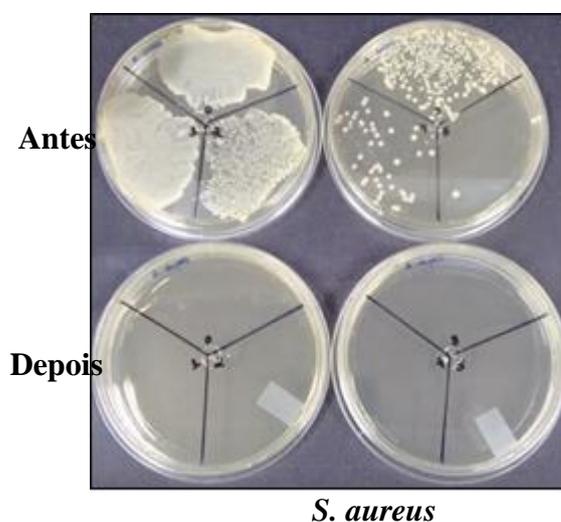


Figura 4. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV no microrganismo *S. aureus*.

SURFACE UV

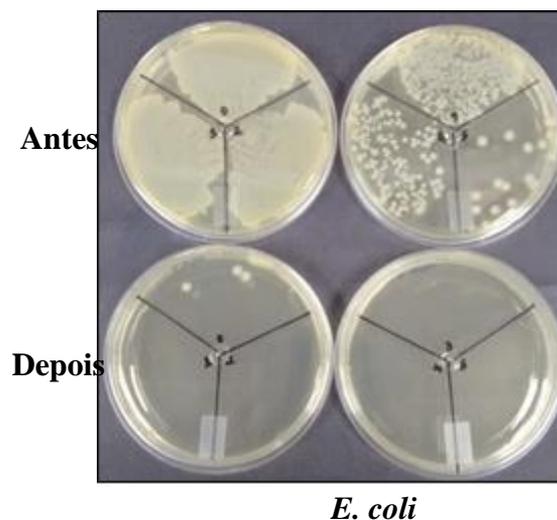


Figura 5. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV no microrganismo *E. coli*.

Observa-se nas Figuras 4 e 5 elevada redução no crescimento das bactérias Gram-positiva *S. aureus* e Gram-negativa *E. coli* após a aplicação do Surface UV, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação destas bactérias. Além da análise qualitativa, na qual se observa visualmente a diminuição na quantidade de bactérias no meio de cultura, foi realizada também uma análise quantitativa, por meio da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Esta análise está ilustrada no gráfico abaixo (Figura 6).

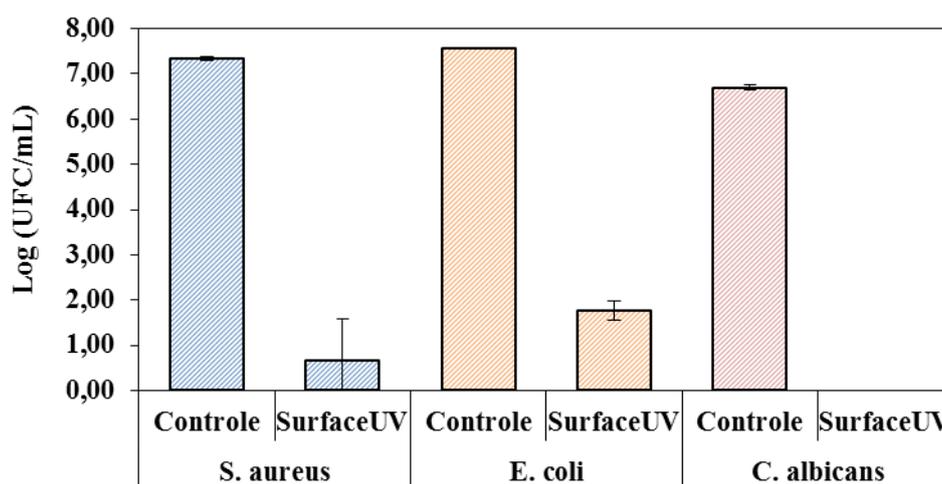


Figura 6. Gráfico da sobrevivência de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* em log (UFC/mL) antes e depois da aplicação do Surface UV.



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV



Analisando o gráfico (Figura 6), observa-se redução de 6,5 logs para a bactéria Gram-positiva *S. aureus*, 6 logs para a bactéria Gram-negativa *E. coli* e 7 logs para o fungo *C. albicans*. Essas reduções representam cerca de 99,9999% de inativação microbiana após aplicação do Surface UV, nas condições testadas.

Procedimento Experimental #4

Este experimento foi realizado no intuito de testar o Surface UV e quantificar a descontaminação de instrumentos odontológicos, tais como tesouras, pinças, sondas exploradoras e outros objetos que possuam curvaturas e dobras, tais como alicates. Amostras de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 - Gram-positiva) e *Escherichia coli* (ATCC 25922 - Gram-negativa) foram cultivadas em caldo BHI (Brain and Heart Infusion) em estufa a 37°C por 24 horas sob agitação. Após o crescimento, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e resuspendidas em PBS. Os inóculos utilizados para o experimento foram de, aproximadamente, 10^7 UFC/mL.

Os instrumentos foram mergulhados nos inóculos e, com o auxílio de swabs esterilizados, uma coleta foi realizada destes instrumentos. Os swabs foram passados diretamente de um lado da placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. Logo após, os instrumentos foram mergulhados nos inóculos novamente e, então, aplicou-se o Surface UV, vagarosamente, por toda a superfície, por 60 segundos. Em seguida, uma nova coleta foi realizada. Após esta coleta, os swabs foram passados diretamente do outro lado da mesma placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.



Figura 7. Instrumentos odontológicos contaminados com *S. aureus* e *E. coli* e posterior aplicação do Surface UV.



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV

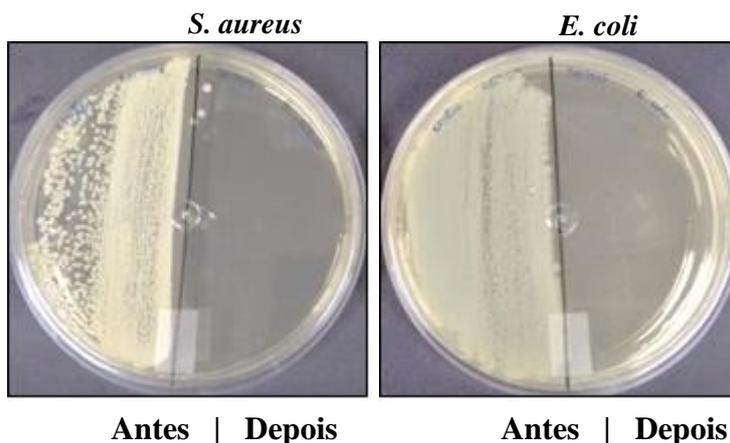
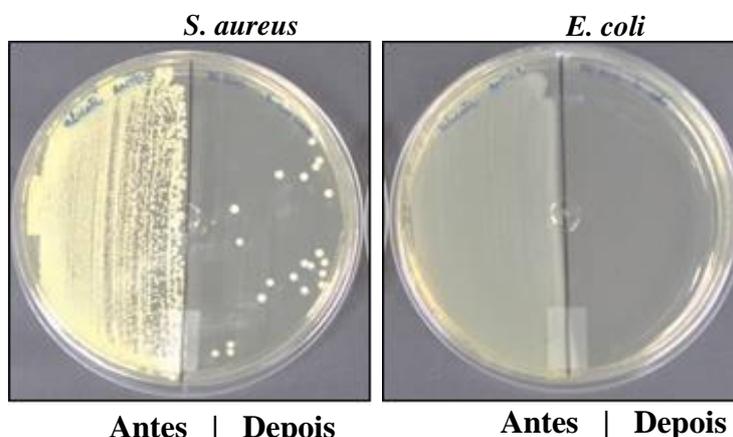


Figura 8. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV nos instrumentos odontológicos contaminados com *S. aureus* e *E. coli*.

Observa-se na Figura 8 uma redução no crescimento das bactérias *S. aureus* e *E. coli* após a aplicação do Surface UV nos instrumentos odontológicos, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação das bactérias presentes nestes objetos.



Figura 9. Alicates contaminados com *S. aureus* e *E. coli* e posterior aplicação do Surface UV.



SURFACE UV



Figura 10. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV nos alicates contaminados com *S. aureus* e *E. coli*.

Observa-se na Figura 10 uma redução no crescimento das bactérias *S. aureus* e *E. coli* após a aplicação do Surface UV nos alicates, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação das bactérias presentes nestes objetos. Mesmo apresentando algumas unidades formadoras de colônias depois da aplicação do Surface UV, a quantidade observada é muito baixa comparada com a quantidade inicial, antes da aplicação.

Analisando o gráfico da Figura 11, observa-se redução de 5 logs para a bactéria Gram-positiva *S. aureus* e 5,5 logs para a bactéria Gram-negativa *E. coli* após a aplicação do Surface UV. Estes resultados indicam que o equipamento foi eficiente na eliminação de microrganismos presentes em instrumentos odontológicos e outros objetos que possuam curvaturas e dobras. O fato de tais instrumentos possuírem curvaturas e dobras pode ser um fator que dificulte a descontaminação dos mesmos, no entanto, o Surface UV foi eficaz na eliminação de 99,999% dos microrganismos.

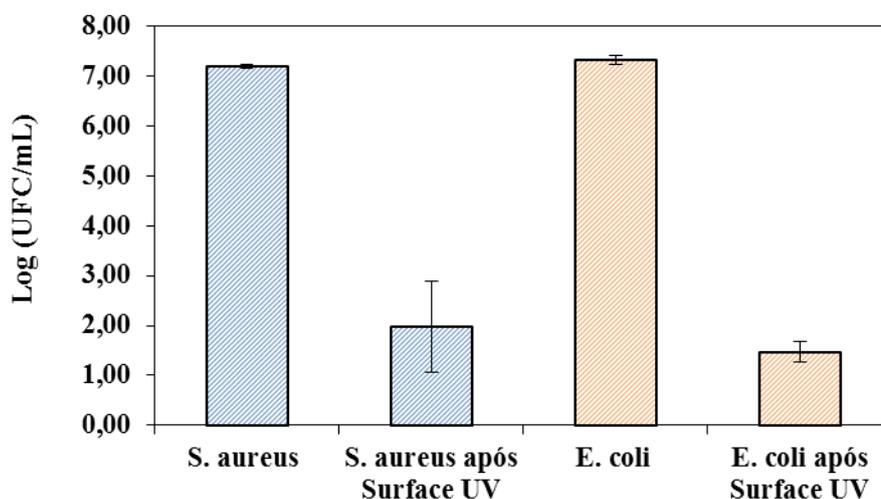


Figura 11. Gráfico da sobrevivência de *S. aureus* e *E. coli* em log (UFC/mL) antes e depois da aplicação do Surface UV em instrumentos odontológicos e outros objetos.



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV



Procedimento Experimental #5

Este procedimento experimental foi realizado em macas da Unidade Básica de Assistência à Saúde (UBAS) do Campus da USP de São Carlos. Com o auxílio de swabs esterilizados foram coletadas amostras de microrganismos de quatro regiões de maca ginecológica e outras quatro regiões de maca ambulatorial. Os swabs foram passados diretamente de um lado da placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. Após esta coleta, aplicou-se o Surface UV, vagarosamente, por toda a região das macas, por 5 minutos e, em seguida novas coletas foram realizadas. Os swabs foram passados diretamente do outro lado da mesma placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.



Figura 12. Aplicação do Surface UV em macas da Unidade Básica de Assistência à Saúde (UBAS) do Campus da USP de São Carlos.

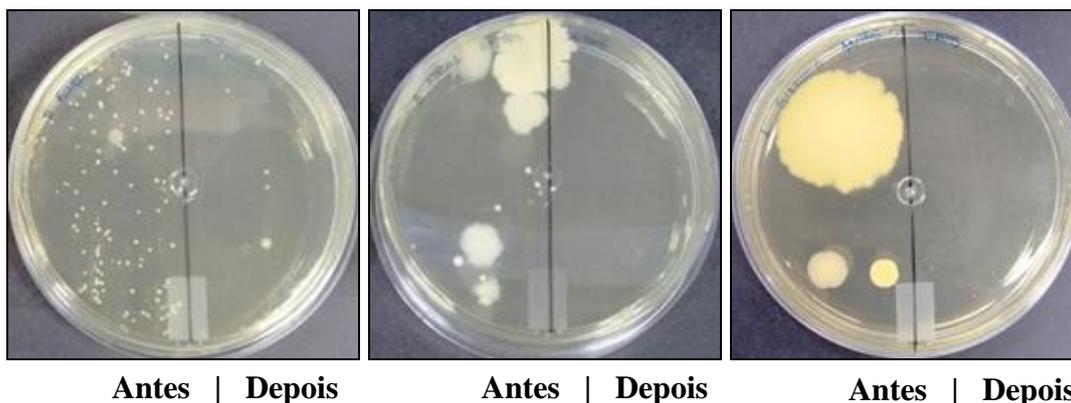


Figura 13. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV na maca ginecológica e maca ambulatorial.



www.mmo.com.br

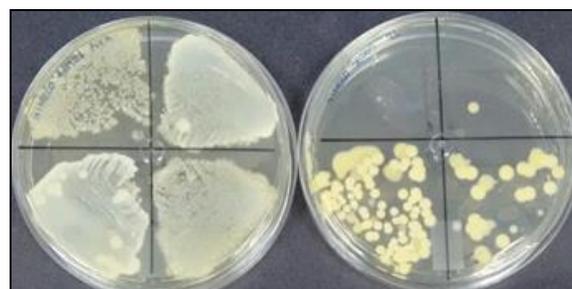
Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV



Observa-se na Figura 13 uma redução no crescimento microbiano após a aplicação do Surface UV nas macas, indicando que o equipamento foi eficiente na eliminação de bactérias e fungos presentes nestas superfícies. Mesmo apresentando poucas colônias após a aplicação do Surface UV (na primeira placa), a quantidade observada é muito baixa comparada com a inicial. Além disso, a presença dessas colônias de bactérias pode ser contaminação do processo de coleta do material e não necessariamente microrganismos presentes na maca.

Outro procedimento experimental foi realizado em macas da Unidade Básica de Assistência à Saúde (UBAS) do Campus da USP de São Carlos. Com o auxílio de swabs esterilizados foram coletadas amostras de microrganismos de quatro regiões de maca ginecológica e maca ambulatorial. Os swabs foram colocados em tubos Falcon com 3 mL de caldo BHI (Brain and Heart Infusion). Após esta coleta, aplicou-se o Surface UV, por região, por 60 segundos. Após a iluminação de cada região, nova coleta foi realizada, da mesma maneira, conforme descrito acima. Após aplicação do equipamento nas demais regiões e subsequente coleta, todas as amostras foram mantidas em estufa a 37°C por 18 horas. Após a incubação, os tubos foram agitados em vortex para desprendimento dos microrganismos. Em seguida, foram realizadas 5 diluições seriadas (1:10) em PBS, e alíquotas de 25 µL de cada diluição foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI). As placas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.



Antes

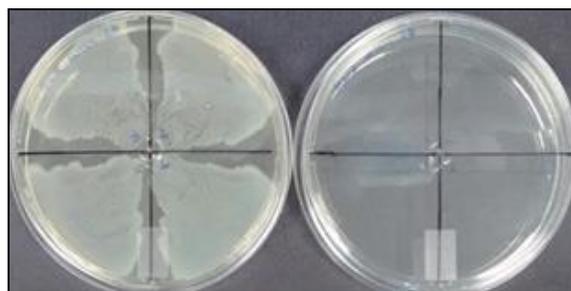
Depois



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV



Antes

Depois

Figura 14. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação do Surface UV na maca ginecológica e maca ambulatorial. As placas foram divididas em quadrantes, sendo cada quadrante uma diluição.

De acordo com a Figura 14, observa-se uma redução no crescimento microbiano após a aplicação do Surface UV na superfície das macas. Como nesta metodologia os swabs ficaram emersos em meio de cultura overnight e somente após isso foram realizadas as diluições e plaqueamentos, não houve redução total dos microrganismos em alguns pontos das macas. No entanto, é possível afirmar que o equipamento foi eficiente na eliminação de bactérias e fungos em outros pontos das macas, como está indicado na imagem com redução total de microrganismos.

Procedimento Experimental #6

Este procedimento experimental foi também realizado em macas da Unidade Básica de Assistência à Saúde (UBAS) do Campus da USP de São Carlos. A diferença entre esse procedimento e o descrito anteriormente é que neste foram usados 2 equipamentos Surfaces UV em conjunto, simulando maior área de iluminação por região. Com o auxílio de swabs esterilizados foram coletadas amostras de microrganismos de quatro regiões de maca ginecológica e outras quatro regiões de maca ambulatorial. Os swabs foram passados diretamente de um lado da placa de Petri contendo ágar de infusão de cérebro e coração (Brain and Heart Infusion - BHI), sem a realização de diluições. Após esta coleta, aplicou-se os 2 Surfaces UV, juntos por região, por 60 segundos. Após a iluminação de cada região, novas coletas foram realizadas e o plaqueamento feito diretamente no outro lado da placa de Petri. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas e, em seguida, o crescimento das unidades formadoras de colônias foi analisado.



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV

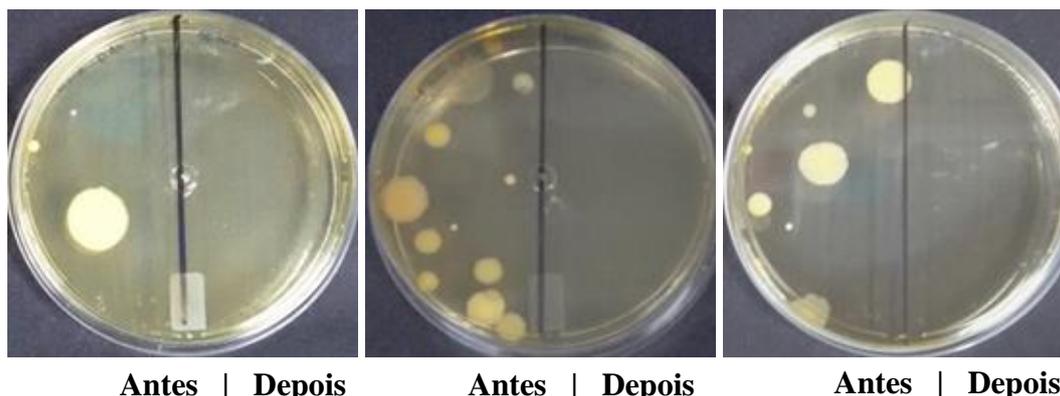


Figura 15. Crescimento microbiano antes e depois da aplicação de 2 Surfaces UV na maca ginecológica e maca ambulatorial.

Esse procedimento experimental mostrou que 2 Surfaces UV, operando juntos, aumentaram a área de iluminação por região e inativaram com maior eficácia a superfície das macas. Desse modo, pode-se concluir que para macas ambulatoriais e ginecológicas é melhor aplicar um equipamento que ofereça maior área de iluminação por região.

Medidas de intensidade e variação das distâncias de aplicação do Surface UV

Para garantir a eficácia do equipamento em relação à descontaminação de superfícies, é importante que o Surface UV seja aplicado, no máximo, a 1 cm de distância das superfícies. Assim, para mostrar que a distância é um fator importante na aplicação correta do equipamento e na descontaminação efetiva das superfícies, medidas de intensidade foram realizadas variando-se as distâncias de aplicação de 2 em 2 cm (distância da lâmpada até a superfície). A tabela e o gráfico abaixo mostram as intensidades do Surface UV de acordo com as distâncias, sendo as medidas realizadas a partir da lâmpada do equipamento até o detector de intensidade.

Distância (cm)	Intensidade ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)
0	$3,1 \times 10^4$
2	$1,3 \times 10^4$
4	$6,3 \times 10^3$
6	$3,0 \times 10^3$
8	$1,7 \times 10^3$
10	$1,1 \times 10^3$

Tabela 1. Intensidade do Surface UV ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$) nas diferentes distâncias entre a lâmpada e as superfícies.



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061

SURFACE UV



De acordo com a Tabela 1 e o gráfico da Figura 16, é possível observar que a intensidade do Surface UV reduz com o aumento da distância. Assim, quanto mais próximo o equipamento estiver da superfície a ser descontaminada, maior será a intensidade e, conseqüentemente, maior será a dose entregue para inativar os microrganismos presentes nesta superfície. Por exemplo, aplicando o Surface UV a 1 cm de distância da superfície, isto é, 2 cm de distância da lâmpada do equipamento até a superfície, a intensidade é de $1,3 \times 10^4 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ e, realizando a iluminação por 60 segundos, a dose energética entregue é de $0,78 \text{ J}/\text{cm}^2$. Essa dose é capaz de inativar diversos microrganismos presentes em superfícies, como mostrado anteriormente.

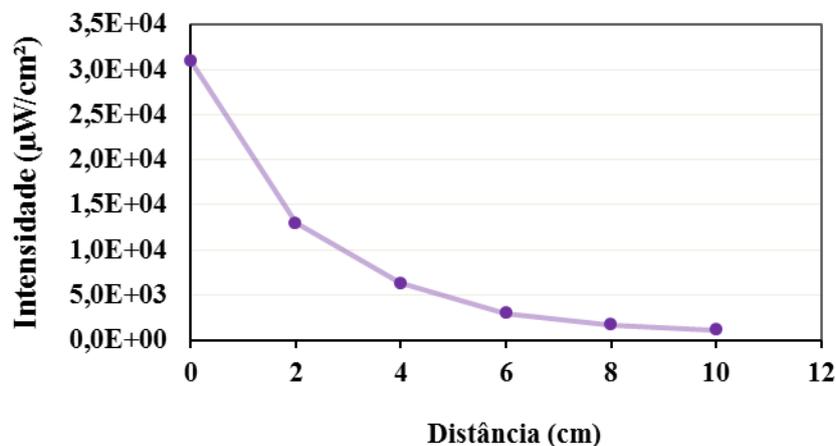


Figura 16. Decaimento da intensidade do Surface UV nas diferentes distâncias entre a lâmpada e as superfícies.

Após o cálculo da intensidade do Surface UV, alguns experimentos foram realizados com quantidades conhecidas das bactérias *S. aureus* e *E. coli*. As bactérias foram cultivadas em caldo BHI em estufa a 37°C por 24 horas sob agitação. Após o crescimento, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos e resuspendidas em PBS. Os inóculos utilizados para o experimento foram de, aproximadamente, 10^8 UFC/mL. Os grupos experimentais foram divididos em grupo controle (sem aplicação do Surface UV), grupo Surface UV aplicado a 2 cm de distância, grupo Surface UV aplicado a 4 cm de distância, grupo Surface UV aplicado a 6 cm de distância, grupo Surface UV aplicado a 8 cm de distância e grupo Surface UV aplicado a 10 cm de distância. Para testar a eficácia do equipamento nestas diferentes distâncias, os microrganismos foram diluídos em PBS, e alíquotas de 25 μL de cada



www.mmo.com.br

Rua Geminiano Costa, 143 - São Carlos - SP - 13560-641
Tel. (16) 3411-5060 Fax: (16) 3411-5061



diluição foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar BHI. Após o plaqueamento, o Surface UV foi aplicado, vagarosamente, por toda a região da placa, por 60 segundos, respeitando-se as distâncias estabelecidas em cada grupo, de 2, 4, 6, 8 e 10 cm da lâmpada até a superfície das placas. Após o procedimento, as culturas foram mantidas em estufa a 37°C por 48 horas para a realização das contagens das unidades formadoras de colônias.

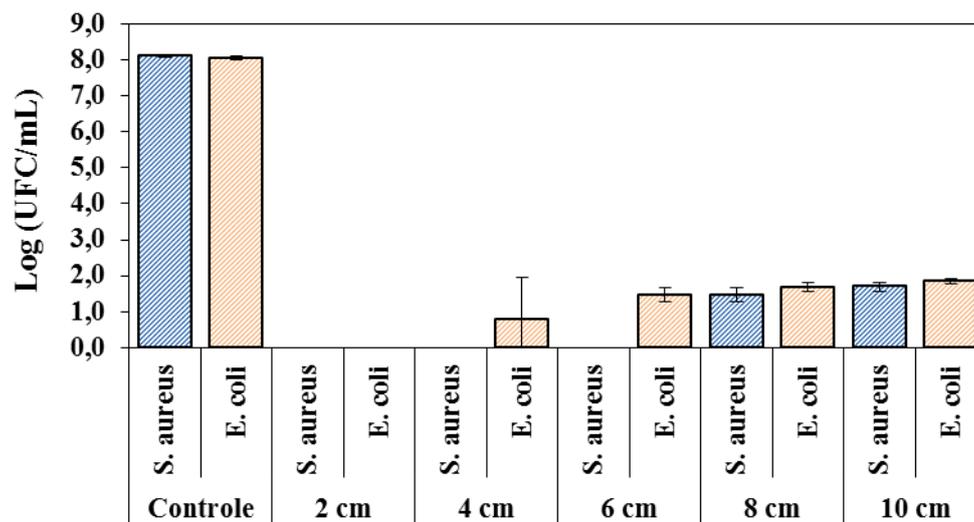


Figura 17. Gráfico da sobrevivência de *S. aureus* e *E. coli* em log (UFC/mL) antes e depois do Surface UV aplicado em diferentes distâncias.

Analisando o gráfico da Figura 17, observa-se redução total de *S. aureus* e *E. coli* quando a lâmpada do Surface UV fica a 2 cm de distância da superfície. Quando essa distância passa para 4 cm, a inativação de *S. aureus* continua sendo total, mas a de *E. coli* não. O mesmo acontece quando a distância é de 6 cm. A partir de 8 cm de distância, as inativações de *S. aureus* e de *E. coli* já não são totais. Isso mostra que a distância de aplicação do Surface UV é um fator importante para a inativação de microrganismos, devendo o equipamento ser aplicado o mais próximo possível da superfície a ser descontaminada.

Conclusões

Tendo em vista todos os resultados apresentados, o equipamento Surface UV mostrou-se efetivo na descontaminação de superfícies e pode ser utilizado como ferramenta prática, barata e viável na descontaminação de superfícies em laboratórios, consultórios odontológicos, centros de saúde e hospitais em geral.