

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOCiência

Ana Flávia Namba

**Estudo in vitro dos efeitos microestruturais da terapia
fotodinâmica em insumos médico-hospitalares**

SÃO BERNARDO DO CAMPO - SP
2019

Ana Flávia Namba

**Estudo *in vitro* dos efeitos microestruturais da terapia
fotodinâmica em insumos médico-hospitalares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do ABC, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia Aparecida da Ana

Co-orientador: Prof. Dr. Nasser Ali Daghashtanli

SÃO BERNARDO DO CAMPO - SP

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Universidade Federal do ABC

Namba, Ana Flávia

Estudo *in vitro* dos efeitos microestruturais da terapia fotodinâmica em insumos médico-hospitalares / Ana Flávia Namba. – 2019.

86 fls. : il.

Orientadora: Patrícia Aparecida da Ana

Coorientador: Nasser Ali Daghashtanli

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do ABC, Programa de Pós-Graduação em Biotecnociência, Santo André, 2019.

1. terapia fotodinâmica. I. Aparecida da Ana, Patrícia. II. Ali Daghashtanli, Nasser. III. Programa de Pós-Graduação em Biotecnociência, 2019. IV. Título.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca no dia da defesa, sob responsabilidade única do(a) autor(a) e com a anuência do(a) orientador(a).

São Bernardo do Campo/SP 02 de janeiro de 2020

Assinatura do(a) autor(a):



Assinatura do(a)

orientador(a):





MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP
CEP 09210-580 - Fone: (11) 4996-0017
pgebio@gmail.com

FOLHA DE ASSINATURAS

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Ana Flávia Namba, realizada em 6 de junho de 2019:

Prof.(a) Dr.(a) **Patricia Aparecida da Ana** (Universidade Federal do ABC) – Presidente

Prof.(a) Dr.(a) **Fernanda Dias da Silva** (Universidade Federal do ABC) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Renato Araujo Prates** (Universidade Nove de Julho) – Membro Titular

Prof.(a) Dr.(a) **Ilka Tiemy Kato Prates** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

Prof.(a) Dr.(a) **Arnaldo Rodrigues dos Santos Junior** (Universidade Federal do ABC) – Membro Suplente

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pelas concessões nos programas de pós-graduação da UFABC.

À Central Multiusuário da UFABC pela disponibilização de equipamentos, em especial aos técnicos Tanil, Adrian e a estagiária Dianne pelo auxílio prestado no preparo e leitura de amostras.

Aos colegas da UFABC Matheus Del-Valle, Katia Inomata, Patricia da Silva Souza e Giovanna Lepore pela ajuda na parte experimental.

À Profa. Ilka Prates pela ajuda na parte experimental.

Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (PROCAD-CAPES edital 071/2013-88881.068505/2014-01) pelo apoio dado.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fotônica (CNPq INCT #465763/2014-6 - INFO) pelo apoio dado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A limpeza e desinfecção de superfícies e materiais em serviços de saúde são elementos primários nas medidas de controle das infecções. Para os materiais termossensíveis, os agentes químicos empregados apresentam desvantagens tais como o odor dos produtos, o qual pode acarretar em reações alérgicas aos pacientes e à equipe de enfermagem. A terapia fotodinâmica (PDT) tem se mostrado uma técnica efetiva no tratamento de infecções provocadas por diferentes microrganismos; contudo, nada se sabe sobre a possibilidade de se empregar esta técnica na descontaminação de produtos médico-hospitalares. Este estudo *in vitro* objetivou avaliar os efeitos do ácido peracético 0,2%, do hipoclorito de sódio 1% e da PDT com azul de metileno 0,01% na composição e alterações de cor de máscaras e extensões hospitalares. Para tal, 100 amostras de máscara e 100 amostras de extensão foram aleatoriamente distribuídas em 20 grupos experimentais ($n = 10$, 10 grupos para cada material), nos quais variou-se a substância aplicada (hipoclorito de sódio 1%, ácido peracético e terapia fotodinâmica – PDT) e a quantidade de aplicações (sem aplicação, 1, 2 ou 3 aplicações). A análise composicional foi realizada por meio de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier, enquanto que a avaliação das alterações de cor foi efetuada empregando-se análise de imagens por meio do método CIElab, avaliando-se os parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE . Os dados das mudanças de cor foram analisados estatisticamente ($\alpha = 5\%$). Todos os agentes modificaram a composição dos dois materiais e tais alterações podem indicar a degradação dos mesmos. Embora todas as substâncias testadas tenham promovido alterações em diferentes parâmetros de cor avaliados, o ácido peracético e o azul de metileno isoladamente promoveram mudanças na cor final percebida apenas das extensões hospitalares. Concluiu-se que as três técnicas alteram a composição química tanto de máscaras quanto de extensões hospitalares, e que tais mudanças têm relação positiva com o número de tratamentos realizados. As alterações composicionais podem estar relacionadas com as alterações de cor promovidas em ambos os materiais.

Palavras-chave: Desinfecção, Material Médico Hospitalar, Laser, Esterilização, Contaminação de Materiais, terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

Cleaning and disinfecting surfaces and materials in health services are primary elements in infection control measures. For thermosensitive materials, the chemical agents employed present disadvantages such as the odor of the products, which can lead to allergic reactions to patients and the nursing team. Photodynamic therapy (PDT) has been shown to be an effective technique in the treatment of infections caused by different microorganisms; however, nothing is known about the possibility of using this technique in the decontamination of medical-hospital products. This *in vitro* study aimed to evaluate the effects of 0.2% peracetic acid, 1% sodium hypochlorite and PDT with 0.01% methylene blue on the composition and color changes of masks and hospital extensions. For this, 100 mask samples and 100 extension samples were randomly distributed in 20 experimental groups ($n = 10$, 10 groups for each material), in which the applied substance was varied (1% sodium hypochlorite, peracetic acid and therapy photodynamic - PDT) and the number of applications (without application, 1, 2 or 3 applications). The compositional analysis was performed by Fourier transform infrared absorption spectroscopy, while the evaluation of the color changes was done by image analysis using the CIElab method, evaluating the parameters ΔL , Δa , Δb and ΔE . Data on color changes were statistically analyzed using Kruskal-Wallis non-parametric and post-hoc Student-Newmann-Keuls test, with significance level of 5%. It was observed that all agents altered the composition of the two materials evaluated in a similar way. Although all the agents tested promoted changes in different color parameters, peracetic acid and methylene blue alone promoted changes in the final color perceived only in hospital extensions. It was possible to conclude that 0.2% peracetic acid, 1% sodium hypochlorite and photodynamic therapy with methylene blue (PDT) alter the chemical composition of both masks and hospital extensions, and that these alterations are positively related with the number of treatments performed. These compositional changes may be related to the color changes promoted in both materials by all agents tested.

Key-words: Disinfection, Hospital Medical Supplies, Laser, Sterilization, Materials Contamination, photodynamic therapy.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	13
3. HIPÓTESE NULA	13
4. REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1 Máscaras e extensões de nebulização	14
4.2 Policloreto de vinila (PVC)	15
4.3 Métodos de limpeza e desinfecção.....	17
4.4. Terapia fotodinâmica	19
4.5 Mecanismo de Ação da PDT	19
4.6. Azul de metileno	23
5. MATERIAL E MÉTODO	25
5.1 Delineamento experimental	25
5.2. Preparo de amostras	25
5.3. Grupos experimentais.....	26
5.4. Fonte de luz e fotossensibilizador empregados na PDT.....	28
5.5. Avaliação composicional.....	29
5.6. Avaliação das mudanças de cor	30
5.7 Análise estatística.....	33
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1 Avaliação composicional.....	35
6.1.1. Efeitos do ácido peracético	48
6.1.2. Efeitos do hipoclorito de sódio.....	54
6.1.3. Efeitos da terapia fotodinâmica	60
6.2 Avaliação das mudanças de cor	66
7. CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o ambiente em serviços de saúde tem sido foco de especial atenção para minimização da disseminação de microrganismos, pois pode atuar como fonte de recuperação de patógenos potencialmente causadores de infecções relacionadas à assistência à saúde, como os microrganismos multirresistentes¹. O uso de medicações por via inalatória tem levado ao maior uso de nebulizadores²⁻³ e existe uma preocupação de que esses equipamentos possam contribuir como uma fonte de infecção bacteriana³.

A limpeza e desinfecção de superfícies e materiais em serviços de saúde são elementos primários e eficazes nas medidas de controle para romper a cadeia epidemiológica das infecções¹. Segundo Spaulding⁴, os materiais utilizados na assistência à saúde são classificados de acordo com seu risco potencial de contaminação e transmissão de infecção como: crítico, semi crítico e não crítico.

Conforme Anders⁵, os nebulizadores são dispositivos médico hospitalares que são utilizados geralmente na terapêutica de afecções do trato respiratório para alívio de processos inflamatórios, congestivos e obstrutivos. São dispositivos que entram em contato com mucosas íntegras colonizadas e exige minimamente uma desinfecção de nível intermediário sempre após rigorosa limpeza⁶⁻⁷. Para realizar a desinfecção destes produtos, é necessário que se faça um procedimento, chamado de “desinfecção de nível intermediário ou de alto nível”. A desinfecção de nível intermediário deve destruir todas as bactérias vegetativas, bacilos da tuberculose, fungos e vírus lipídicos e alguns não lipídicos, sendo que este tipo não elimina esporos. A desinfecção de alto nível é aquela capaz de eliminar todos os microrganismos em forma vegetativa e alguns esporos⁸.

Atualmente, as normas brasileiras⁹⁻¹⁰ e internacionais¹¹ recomendam que sejam empregados, como agentes para desinfecção de nebulizadores, o ácido peracético a 0,2% (desinfetante de alto nível) e o hipoclorito de sódio a 1% (desinfetante de nível intermediário). Estes agentes são reconhecidamente eficientes para eliminar bactérias, vírus, fungos e esporos¹⁰. Contudo, a desinfecção por imersão em soluções químicas é complexa operacionalmente,

apresenta riscos ocupacionais e a possibilidade de permanência de resíduos tóxicos¹².

O reprocessamento inadequado dos artigos pode acarretar sérios danos aos pacientes e profissionais. Para os pacientes, os artigos podem tornar-se fonte de contaminação e aumentar o risco de desenvolver infecção¹⁴⁻¹⁵. Para os profissionais, a frequente exposição e manuseio de produtos químicos associados à negligência no uso de EPI potencializam os riscos ocupacionais. Desta forma, o profissional deverá buscar constantemente a qualidade e o aprimoramento do seu trabalho, evitando atitudes inadequadas e rotineiras⁸. Grande parte dos estabelecimentos de saúde, em nosso país, não dispõe de recursos financeiros em abundância, sendo necessário reduzir custo de processos e redobrar cuidados com materiais afim de evitar danos e curta vida útil dos mesmos. Desta maneira, a busca por agentes que garantam a desinfecção de insumos médico-hospitalares e que não apresentem tais efeitos adversos, que sejam eficazes e de baixo custo, se faz necessária.

A terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*) tem sido reportada como uma técnica eficaz para a descontaminação de tecidos biológicos, tais como bolsas periodontais e sítios periimplantares em Odontologia¹⁵, assim como de pele e mucosas¹⁶⁻¹⁷. A eficiência desta técnica foi comprovada na eliminação de bactérias¹⁸⁻¹⁹, fungos²⁰⁻²¹ e parasitas²²⁻²³. Atualmente, os tratamentos fotodinâmicos são utilizados nos EUA, Canadá, Japão, Europa, dentre outros²⁰. No Brasil, ainda que tímido, emprega-se o tratamento em centros oncológicos²⁴⁻²⁵, centros oftalmológicos²⁶⁻²⁷, centros odontológicos para eliminação de bactérias relacionadas a infecções endodônticas e periodontais²⁸, no tratamento de lesões de cárie²⁹ e em implantes dentários³⁰. A terapia fotodinâmica também já é utilizada em tratamentos dermatológicos para doenças de pele³¹ e no tratamento de úlceras em pacientes diabéticos³². A técnica oferece vantagens como um amplo espectro de ação, sendo eficiente inclusive sobre microrganismos resistentes a antibióticos, e apresenta menores efeitos nocivos quando comparada a outros tratamentos³³⁻³⁵.

Não obstante a aprovação pelo FDA e por agências de controle sanitário de outros países tenha sido um marco importante para a terapia fotodinâmica, a aceitação e o aumento da abrangência do efeito fotodinâmico ocorreu somente

nos últimos 5 a 10 anos. As razões para este avanço ocorreram de várias maneiras: fontes de luz mais eficientes como lasers de diodo, LEDs e fontes não coerentes, e fotossensibilizadores mais acessíveis como azul de metileno, porfirina, clorina e seus derivados³⁶. O azul de metileno é um corante que, ao ser associado a fontes de luz de emissão vermelha, apresenta bons resultados na redução microbiana de várias culturas de bactérias e fungos³⁷⁻³⁸. Este composto apresenta baixa toxicidade e é utilizado na área médica para uma série de finalidades terapêuticas¹⁵. O azul de metileno tem sido extensivamente reportado na literatura em tratamentos de casos de melanomas³⁹, células tumorais cerebrais⁴⁰ e células de rim⁴¹, sendo justificado pelo seu baixo custo frente às terapias convencionais. Cabe ressaltar que o desenvolvimento de protocolos clínicos de baixo custo é de grande importância para a saúde pública³⁶.

Na busca por publicações sobre os efeitos de ácido peracético, hipoclorito de sódio e terapia fotodinâmica na integridade física e química de nebulizadores de policloreto de vinila (PVC), foi possível obter resultado apenas para ácido peracético⁴², quando se concluiu que a repetição de imersões em ácido peracético por até três vezes não influenciou a colonização da superfície por *Staphylococcus aureus*, além de não alterar a composição química, rugosidade e capacidade de recuperar-se após deformação de tubos endotraqueais de PVC⁴².

Observando a ausência de estudos neste tema, questionamo-nos se as atuais técnicas de desinfecção ou a terapia fotodinâmica podem modificar física e quimicamente a estrutura de artigos médico hospitalares constituídos de policloreto de vinila. O estudo de tais alterações poderá contribuir na proposta de uma técnica alternativa de descontaminação destes insumos e, por isto, este trabalho foi proposto.

2. OBJETIVO

Diante do exposto, este estudo objetiva avaliar os efeitos do ácido peracético a 0,2%, do hipoclorito de sódio a 1% e da terapia fotodinâmica com azul de metileno (PDT) na composição e na cor de máscaras e extensões utilizadas em nebulizadores hospitalares.

3. HIPÓTESE NULA

A hipótese nula a ser testada é que a terapia fotodinâmica não altera a composição nem a cor do material médico hospitalar constituído de policloreto de vinila (PVC).

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Máscaras e extensões de nebulização

Equipamentos de tratamento intensivo, como ventiladores, bolsas, umidificadores e nebulizadores são a causa de 14,7% das infecções⁴³⁻⁴⁴. Os nebulizadores são equipamentos destinados a introduzir líquidos, sob forma de aerossol, no trato respiratório do paciente. Nestes equipamentos são empregados os dispositivos chamados de máscaras e extensões (**Figura 1**). O processo terapêutico dos nebulizadores consiste em distribuir uma suspensão de partículas de água nas vias aéreas, partículas estas que variam em sua dimensão de 0,5 a 5 micrometros em nebulizadores mecânicos simples, em oxigênio ou ar comprimido, com ou sem associação de medicação, para alívio de processos inflamatórios, congestivos e obstrutivos⁴⁵. Os nebulizadores têm altas taxas de contaminação após o uso e são frequentemente contaminados com bactérias Gram-negativas⁴⁶.

Figura 1: Máscara e extensão empregados nos nebulizadores hospitalares.



Fonte: Arquivo pessoal.

Os produtos para saúde semi críticos utilizados na assistência ventilatória, anestesia e inaloterapia devem ser submetidos à limpeza e, no mínimo, à desinfecção de nível intermediário, com produtos saneantes em conformidade com a normatização sanitária, ou por processo físico de termo

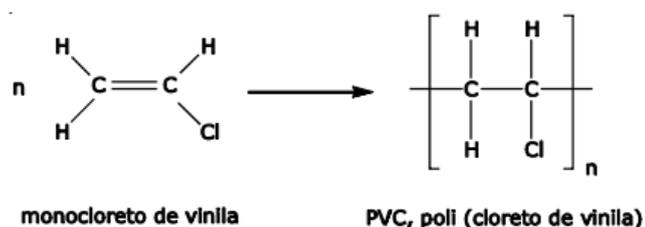
desinfecção, antes da utilização em outro paciente⁴⁷. Tais procedimentos são descritos no item 4.3.

4.2 Policloreto de vinila (PVC)

Os nebulizadores são constituídos de policloreto de vinila. Esta matéria prima é o termoplástico mais consumido no mundo e, dentre suas aplicações, estão os produtos médico-hospitalares, os quais necessitam passar por processos de esterilização⁴⁸. Cerca de 35% dos equipamentos plásticos utilizados na área médica são de PVC. Entre eles, estão muitos instrumentos utilizados em exames, cirurgias e recuperação de pacientes, tais como bolsas de sangue, tubos endotraqueais, bolsas de soro, cateteres cardiovasculares, tubos que saem do coração do paciente e levam o sangue até a máquina de circulação extra-corpórea, sondas e equipamentos de alimentação enteral, cânulas de perfusão e ponteiros para micropipetadores e equipos para soro⁴⁸.

O PVC é um termoplástico, ou seja, material plástico que apresenta a capacidade de ser repetidamente amolecido pelo aumento de temperatura e endurecido pelo resfriamento. Essa alteração é, portanto, reversível. O PVC é considerado um termoplástico uma vez que exibe essas características⁴⁹. O PVC é preparado a partir do monômero monocloreto de vinila; o policloreto de vinila possui átomos de cloro em sua estrutura (**Figura 2**)⁵⁰. O monômero é uma molécula simples, pelo menos bifuncional, ou seja, capaz de reagir por pelo menos duas de suas terminações que, em condições adequadas, dá origem à unidade de repetição (mero) das muitas cadeias poliméricas que formam o polímero. O monômero utilizado na polimerização do PVC é o monômero cloreto de vinila (MVC)⁴⁹.

Figura 2: Reação química monocloreto de vinila.



Fonte: Piatti, 2005⁵⁰

O grande teor de cloro presente na estrutura molecular do PVC torna sua molécula polar, o que aumenta sua afinidade e permite sua mistura com uma gama de aditivos muito maior que a de qualquer outro termoplástico, possibilitando a preparação de formulações com propriedades e características adequadas a cada aplicação⁴⁹. A principal razão do uso do PVC em larga escala é o baixo custo, facilidade de processamento e capacidade de adaptar propriedades para suas aplicações⁴⁹.

Os plastificantes vêm sendo utilizados há muitos anos na produção de PVC flexível para uma grande variedade de aplicações. O nível e o tipo de plastificante utilizado é selecionado para se obter as características necessárias para cada emprego. Eles são em geral líquidos incolores e inodoros, relativamente não voláteis e que exibem baixa solubilidade em água. São em sua grande maioria ésteres ou poliésteres, incluindo outros com base em ácidos adípicos, fosfóricos, sebáceos, trimetílicos ou azeláticos. Basicamente, a ação do plastificante consiste em diminuir a intensidade de ligação entre as moléculas do polímero⁴⁹.

Os ftalatos são um grupo de plastificante muito utilizado para deixar o PVC maleável, no entanto, a Organização Mundial de Saúde classificou o Dioctil Ftalato (DOP) como um agente possivelmente cancerígeno para humanos⁵¹. Como alternativa de plastificante, os triésteres de anidridos trimetílicos vêm se tornando uma importante classe de plastificantes para utilização em resinas vinílicas. Os trimelitados são similares a família dos ftalatos em relação à compatibilidade e à eficiência de plastificação. Quando associados a outros plastificantes monoméricos, contribuem significativamente no processamento, compatibilidade, resistência a extração por água, apresentando ainda baixa volatilidade. Os trimelitados não possuem boa resistência a óleos e solventes à base de hidrocarbonetos. Nesta classe o plastificante mais conhecido é o TOTM (tri octil trimelitato)⁵².

4.3 Métodos de limpeza e desinfecção

No planejamento de indicações de métodos e níveis de processamento requeridos para os produtos de saúde, há a necessidade de utilizar uma abordagem racional, prática e objetiva. Para isso, a classificação proposta por Spaulding, na década de 1960, tem sido convencionalmente utilizada. Esse autor dividiu os materiais em três categorias: críticos, semi críticos e não críticos, com base no grau de risco potencial de transmissão de infecção envolvido no uso desses itens⁴.

Para materiais críticos e semi críticos, a primeira etapa a ser realizada é o processo de limpeza. A limpeza consiste na remoção de sujidades orgânicas e inorgânicas, com redução da carga microbiana presente nos produtos para saúde, utilizando água, detergentes, produtos e acessórios de limpeza, por meio de ação mecânica (manual ou automatizada), atuando em superfícies internas (lúmen) e externas, de forma a tornar o produto seguro para manuseio e preparado para desinfecção⁴⁷.

A desinfecção consiste em processo de eliminação de microrganismos presentes nos produtos utilizados para assistência à saúde; entretanto, com menor poder letal que a esterilização, pois não destrói todas as formas de vida microbiana, principalmente os esporos. Tem como objetivo garantir o manuseio e a utilização segura do produto para saúde, de um paciente a outro, diminuindo os riscos de infecção⁸. Os métodos de desinfecção podem ser: físico, químico e físico químico⁸.

- Físico: agem por ação térmica, como pasteurização e termodesinfecção;
- Químicos: agem pelo uso de desinfetantes químicos, como aldeídos, ácido peracético, soluções cloradas e álcool;
- Físico-Químico: quando associam agentes químicos a parâmetros físicos em processos automatizados.

Neste estudo, utilizamos a desinfecção química de nível intermediário (hipoclorito de sódio) e alto nível (ácido peracético). A desinfecção química de nível intermediário destrói microrganismos patogênicos na forma vegetativa, mico bactérias, a maioria dos vírus e dos fungos, de objetos inanimados e superfícies. Não destrói esporos⁹.

Para realizar a desinfecção de nível intermediário, geralmente utiliza-se o hipoclorito de sódio age pela combinação de oxidação de enzimas e aminoácidos, perda de componentes celulares, inibição de síntese proteicas, quebra no DNA e diminuição na absorção de nutrientes e de oxigênio. A estabilidade e a ação do produto dependem da concentração, da ausência da matéria orgânica, do pH e das condições de armazenagem (vedação do frasco, temperatura e luminosidade do ambiente). Além dessas, outras desvantagens são: corrosividade para metais, incompatibilidade com detergentes, ação descolorante e odor forte e irritante para mucosas do trato respiratório^{53,54}. Não se recomenda a utilização de água sanitária de uso doméstico para instituições de saúde. Mesmo quando há aquisição de soluções desinfetantes cloradas, na forma bruta, para serem diluídas pelo serviço farmacêutico da própria instituição, é necessário que a empresa fornecedora apresente o registro na ANVISA como saneante, o certificado de boas práticas de fabricação e a ficha de segurança do produto químico (FISPQ)⁵⁵⁻⁵⁶.

Desinfecção de alto nível é aquela capaz de eliminar todos os microrganismos em forma vegetativa e alguns esporos⁸. Para realizar a desinfecção de alto nível, geralmente utiliza-se o ácido peracético, o qual se caracteriza pela rápida ação microbida e age pela desnaturação das proteínas, ruptura da parede celular e oxidação de proteínas, enzimas e outros metabólitos⁵⁷. A desvantagem é o seu poder corrosivo em cobre, latão, bronze, aço comum e ferro galvanizado. Este efeito danoso poder ser reduzido mediante uso de aditivos e com modificações do pH da solução⁵⁸.

Ressalta-se que, para os materiais de inaloterapia e assistência ventilatória, devem ser priorizados os métodos físicos de desinfecção pois, além de serem métodos automatizados, permitindo a monitoração dos parâmetros e a reprodutividade do processo, o que minimiza a ocorrência de falhas humanas, também não oferece riscos decorrentes de resíduos químicos aos pacientes, aos profissionais e ao meio ambiente⁸.

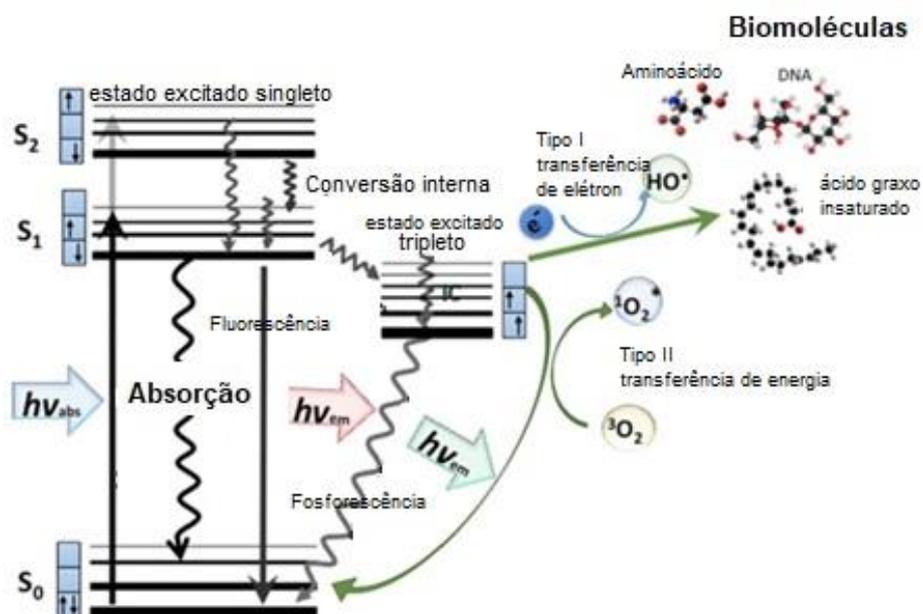
4.4. Terapia fotodinâmica

4.5 Mecanismo de Ação da PDT

A PDT ocorre em decorrência da associação de três componentes essenciais: o fotossensibilizador, a luz de comprimento de onda (λ) adequada e oxigênio presente no meio. A absorção dos fótons de luz pelo fotossensibilizador é a etapa crucial do processo, que induzirá uma reação fotoquímica que culminará na geração de espécies reativas de oxigênio ou radicais livres, tais como o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) ou o radical hidroxila (OH^\bullet). A geração dessas espécies reativas é dependente do tipo de fotossensibilizador utilizado e estas espécies reativas podem causar rapidamente uma toxicidade significativa, levando à morte celular por apoptose ou necrose⁵⁹.

O mecanismo fotodinâmico se inicia com a absorção de um fóton de luz pela molécula do fotossensibilizador. Isto leva à excitação de um elétron em um orbital de maior energia, deixando-o no estado excitado singlete (S_n , mais energético). O mecanismo fotodinâmico é lustrado pelo Diagrama de Jablonski mostrado na **Figura 3** - Adaptado de Hamblin, 2016⁶⁰.

Figura 3: Diagrama de Jablonski.



Fonte: Hamblin, 2016⁶⁰.

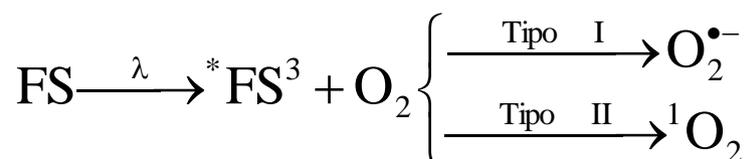
O estado excitado S_n é muito instável e, por esta razão, a molécula pode perder seu excesso de energia por meio do processo radioativo de emissão de luz (fluorescência) ou relaxação física (conversão interna), retornando ao seu estado fundamental (S_0).

Numa molécula fotossensibilizadora para PDT, ocorre o cruzamento intersistemas, na qual ocorre a conversão de spin eletrônico (spins paralelos), onde a molécula transiciona para seu estado excitado tripleto, que é um estado de energia ligeiramente mais baixa que o estado excitado singleto e que possui tempo de vida mais longo⁶⁰. O estado tripleto da molécula do fotossensibilizador pode retornar ao estado fundamental S_0 por meio de processo radioativo, emitindo fótons (fosforescência).

O estado tripleto é muito mais estável (maior tempo de vida, τ , da ordem de microssegundos) do que o estado excitado singleto (da ordem de nanosegundos). Esta longa vida útil do estado tripleto permite que haja tempo suficiente para transferir sua energia para o oxigênio molecular (O_2), único tripleto molecular em seu estado fundamental. Este passo de transferência de energia leva à formação de oxigênio singleto (1O_2), sendo esta reação chamada de processo fotoquímico do Tipo II⁶¹.

Um processo fotoquímico do Tipo I também pode ocorrer pelo qual o estado excitado da molécula sofre reações de transferência de elétrons com diferentes macromoléculas biológicas, levando à formação de radicais livres e/ou íons radicais, tais como outras espécies reativas de oxigênio ($O_2^{\bullet-}$) ou o ânion radical ($OH^{\bullet-}$) ou o radical hidroxila (OH^{\bullet}). O processo fotodinâmico é resumido na **Figura 3**⁶⁰.

O esquema abaixo mostra simplificado, o Processo Fotodinâmico, onde FS é o fotossensibilizador:

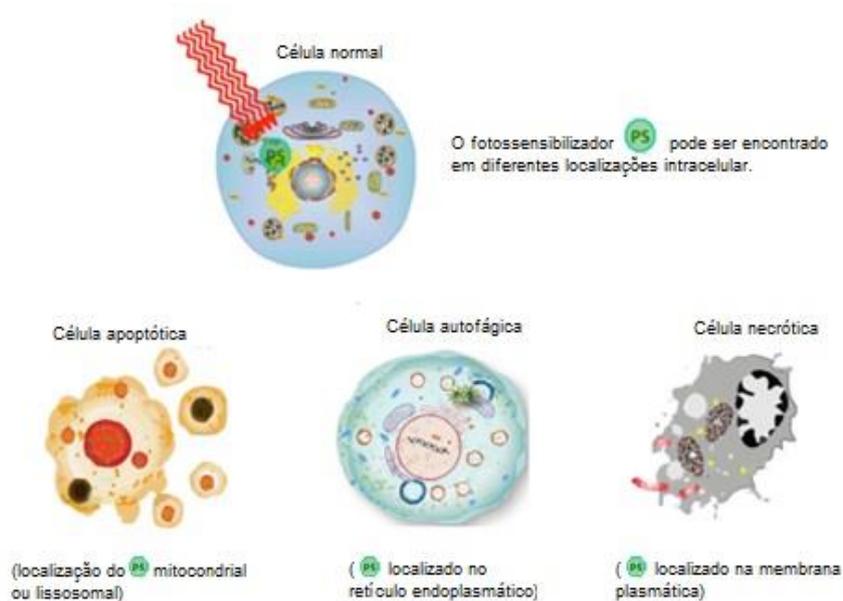


Na presença de oxigênio encontrado nas células, o fotossensibilizador ativado pode reagir com moléculas na sua vizinhança por transferência de

elétrons ou hidrogênio, levando à produção de radicais livres (reação do tipo I) ou por transferência de energia ao oxigênio (reação do tipo II), levando à produção de oxigênio singleto. Ambos os caminhos podem levar à morte celular e à destruição do tecido doente^{62,63}.

A localização do fotossensibilizador em diferentes organelas celulares (mitocôndrias, lisossomos, retículo endoplasmático, membrana plasmática e etc) desempenha um papel importante no tipo de mecanismo de morte celular; entretanto, outros fatores, como a dose final da PDT (concentração de fotossensibilizador x energia) também são essenciais (Figura 4 – Adaptado de Hamblin, 2016)⁶⁰.

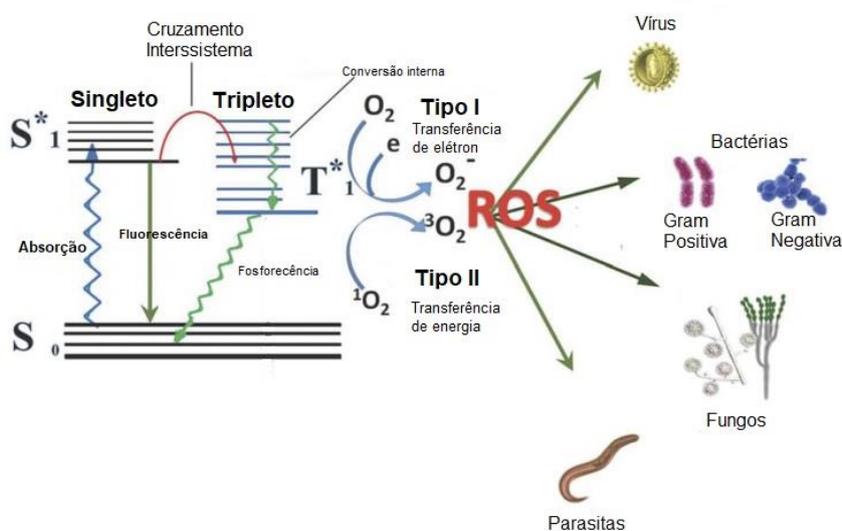
Figura 4: Esquema da morte celular utilizando a PDT.



Fonte: Hamblin, 2016⁶⁰.

Os fotossensibilizadores empregados são moléculas absorvedoras de luz (corantes) não tóxicos, e são ativados pela absorção da luz visível para formar espécies reativas de oxigênio e/ou radicais livres que podem oxidar biomoléculas e destruir as células⁶⁴. A Figura 5 (Adaptada de Rui, 2015⁶⁵) resume a ação dos fotossensibilizadores utilizados em PDT contra células de microrganismos^{60,64,65}.

Figura 5: Esquema do mecanismo de ação da PDT.



Fonte: Rui, 2015⁶⁵.

Os fatores determinantes de uma terapia fotodinâmica eficaz são, dentre outros, se coeficiente de absorção do corante, a concentração adequada deste fotossensibilizador e a taxa de energia da fonte de luz. Em princípio todos os tipos fontes de luz podem ser utilizados em PDT⁶⁶.

As primeiras fontes de luz utilizadas em PDT foram lâmpadas convencionais, emitindo luz não coerente e policromática, com um forte componente térmico associado. O desenvolvimento dos lasers (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) em baixa intensidade com luz monocromática e coerente facilitou a associação com fotossensibilizadores com banda de absorção ressonante com o comprimento de onda emitido pelo laser⁶⁷. O sucesso da terapia utilizando lasers de baixa potência ou lasers operando em baixa intensidade depende de uma conjunção de fatores que englobam características individuais, como condição clínica a ser tratada e características do tecido alvo, e fatores gerais relacionados à dosimetria da luz¹⁵.

O desenvolvimento tecnológico de fontes de luz mais versáteis e de menor custo que laser propiciou melhor expansão da PDT em diferentes situações clínicas. A utilização de fotossensibilizadores com bandas de absorção mais convenientes (na região do vermelho do espectro visível) também propiciou uma melhora significativa na utilização da PDT. Atualmente,

no Brasil, os lasers de diodo com emissão na região do vermelho, em comprimentos de onda próximos a 630-680 nm, são os mais utilizados. São equipamentos com potência suficiente para a terapia fotodinâmica, compactos, robustos, com sistemas ópticos relativamente simples, custo mais acessível, além de possuírem um comprimento de onda ressonante com a banda de absorção da maioria dos corantes atualmente utilizados, tal como o azul de metileno¹⁵.

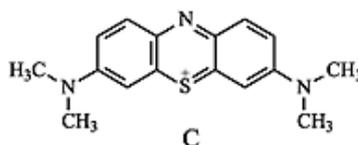
4.6. Azul de metileno

Fotossensibilizadores são moléculas com capacidade de absorver luz numa determinada região do espectro e transferir energia para outras moléculas. O interesse por fotossensibilizadores vem sendo desenvolvido em virtude do uso destas substâncias no tratamento de tumores e na fotoinativação de micro-organismos em diversos sistemas biológicos, tanto *in vitro* como *in vivo*⁶⁸.

A fotossensibilização depende da substância utilizada, da sua concentração, da fluência e da densidade de potência do laser e da espécie bacteriana envolvida. A efetividade do corante está relacionada ao tempo de contato e sua concentração⁶⁹.

Os fotossensibilizadores que têm sido amplamente estudados e utilizados clinicamente para erradicação de microrganismos pertencem a diferentes grupos de compostos, por exemplo, o fenotiazínico, como o azul de metileno (AM) (Figura 6)³⁴. Esta opção de corante é interessante devido ao custo reduzido e aplicabilidade³⁴.

Figura 6: Estrutura química do AM.



Fonte: Perussi, 2007³⁴.

O azul de metileno é um indicador redox que é azul em ambiente oxidante e torna-se incolor após a redução. Sabe-se que este

fotossensibilizador se liga ao DNA preferencialmente aos pares de bases guanina e citosina e foi assumido que é um composto heterocíclico tricíclico que intercala entre os pares de base do DNA. Outra ação é foto-oxidar vários aminoácidos, especialmente triptofano, tirosina, histidina, metionina e cisteína, podendo ocorrer por reação tipo I e II. É muito eficaz para a inativação de bactérias Gram positivas e Gram negativas periodonto-patogênicas⁷⁰. O Azul de metileno é um fotossensibilizador que possui um alto coeficiente de absorvidade molar ($80000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), que absorve numa banda na região do vermelho, em 664 nm. Ao ser irradiado, gera como principal espécie reativa o oxigênio singleto, com rendimento quântico de 0,5.

5. MATERIAL E MÉTODO

5.1 *Delineamento experimental*

Foi conduzido um estudo *in vitro* cego randomizado em que 100 amostras de extensões e 100 amostras de máscaras de nebulização com área de 5 mm² foram aleatoriamente distribuídas em 20 grupos de tratamento (n = 10, 10 grupos para cada material), nos quais variou-se a substância aplicada (hipoclorito de sódio 1%, ácido peracético 0,2% e terapia fotodinâmica – PDT) e a quantidade de aplicações (sem aplicação, 1, 2 ou 3 aplicações). A análise composicional foi realizada por meio de espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), enquanto que a avaliação das alterações de cor foi efetuada empregando-se análise de imagens por meio do método CIE L*a*b*. Os dados das alterações de cor foram analisados estatisticamente de forma independente para cada variável resposta (Δa , Δb , ΔL e ΔE), por meio do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Student-Newmann-Keuls, com nível de significância de 5%. Os tratamentos e a quantidade de aplicações foram considerados fatores de variação e as amostras foram consideradas unidades experimentais.

5.2. *Preparo de amostras*

Para este estudo, foram obtidos 100 espécimes de extensões e 100 espécimes de máscaras de nebulização (**Figura 7**). O material foi adquirido novo, não estéril e fechado, sendo aberto apenas no início dos experimentos após processo de limpeza manual com detergente enzimático de 4 enzimas (Proaction – AS 110 – 4E, Registro ANVISA 344070014, Grow Química, Indaiatuba, Brasil), enxágue com água destilada e secagem com papel toalha.

Os materiais foram abertos em capela de fluxo laminar estéril por um usuário devidamente paramentado com luvas cirúrgicas estéreis, e foram seccionados em dimensões de 5 mm² empregando-se um cortador circular, devidamente limpo e desinfetado. Em seguida, os espécimes foram

armazenados em placas de 96 poços estéreis e mantidos em local seco e arejado até o início dos procedimentos.

Figura 7: Amostra de Máscara (verde) e extensão (transparente)



Fonte: Arquivo pessoal.

5.3. Grupos experimentais

Os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em 20 grupos experimentais de 10 amostras cada, de acordo com a

Tabela 1: Grupos experimentais deste estudo.

GRUPO EXPERIMENTAL	MATERIAL	TRATAMENTO	REPETIÇÕES
1	Máscara	Água destilada	única
2		Ácido Peracético	1
3		0,2% por 10 minutos	2
4			3
5		Hipoclorito de	1
6		sódio 1% por 10	2
7		min	3
8		PDT com	1
9		irradiação por 8	2
10		minutos	3
11	Extensão	Água destilada	única
12		Ácido Peracético	1
13		0,2% por 10 minutos	2
14			3
15		Hipoclorito de	1
16		sódio 1% por 10	2
17		min	3
18		PDT com	1
19		irradiação por 8	2
20		minutos	3

Para os grupos 1 e 11, as amostras foram cuidadosamente cortadas com cortador desinfetado e armazenadas em placas de poços estéreis com 1000 μ L de água destilada por 10 minutos.

Nos grupos 2, 3, 4, 12, 13 e 14, foi empregado ácido peracético (Proaction Peracetic 0,2%, Registro ANVISA 3440700110012, Grow Química, Indaiatuba, Brasil) com concentração de 0,2%, com princípio ativo de ácido peracético de pronto uso. Para os tratamentos, as amostras foram submergidas individualmente em 1000 μ L de ácido peracético por 10 minutos⁵⁶. Em seguida, as amostras foram removidas da solução, com auxílio de pinças estéreis, realizado enxágue com água destilada e colocadas em placas de poços estéreis. Nos grupos com repetição, os tratamentos foram repetidos da mesma maneira, respeitando-se intervalos de 10 minutos entre eles.

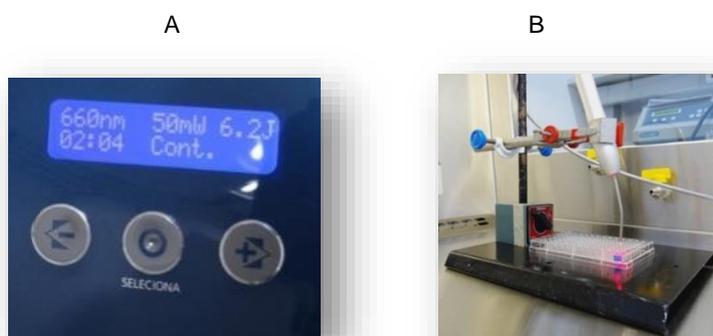
Nos grupos 5, 6, 7, 15, 16 e 17, foi empregado hipoclorito de sódio (Proaction 1%, Registro ANVISA 3440700040014 Grow Química, Indaiatuba, Brasil) com concentração de 1%, com princípio ativo de hipoclorito de sódio de pronto uso. Para os tratamentos, as amostras foram submergidas individualmente em 1000 μ L de hipoclorito de sódio por 10 minutos⁵⁶. Em seguida, as mesmas foram removidas da solução, com auxílio de pinças estéreis, realizado enxágue com água destilada e foram colocadas em placas de poços estéreis. Nos grupos com repetição, os tratamentos foram repetidos da mesma maneira, respeitando-se intervalos de 10 minutos entre eles.

Nos grupos 8, 9, 10, 18, 19 e 20, os quais empregaram terapia fotodinâmica, as amostras foram individualmente submersas em 1000 μ L de azul de metileno 0,01% a 10 mM (Sigma Aldrich, EUA) por 10 minutos; após, foi realizada a irradiação com laser por 8 minutos. Em seguida, foi realizado enxágue com água destilada. Nos grupos com repetição, os tratamentos foram repetidos da mesma maneira, respeitando-se intervalos de 10 minutos entre eles.

5.4. Fonte de luz e fotossensibilizador empregados na PDT

O laser utilizado para realização do estudo foi um laser de $\lambda = 660 \text{ nm}$ (DMC Equipamentos, Ortho Lase, São Carlos, Brasil), com diâmetro de fibra de $600 \mu\text{m}$, com potência de 50 mW , 8 J de energia total entregue, modo contínuo, com distância de 1 cm dos locais a serem irradiados visando-se irradiar a totalidade de um poço de uma placa de cultura de 96 poços (**Figura 8**)^{68,70,71}. Considerando a área do poço ($0,31 \text{ cm}^2$), obtém-se densidade de potência final de $161,3 \text{ mW/cm}^2$.

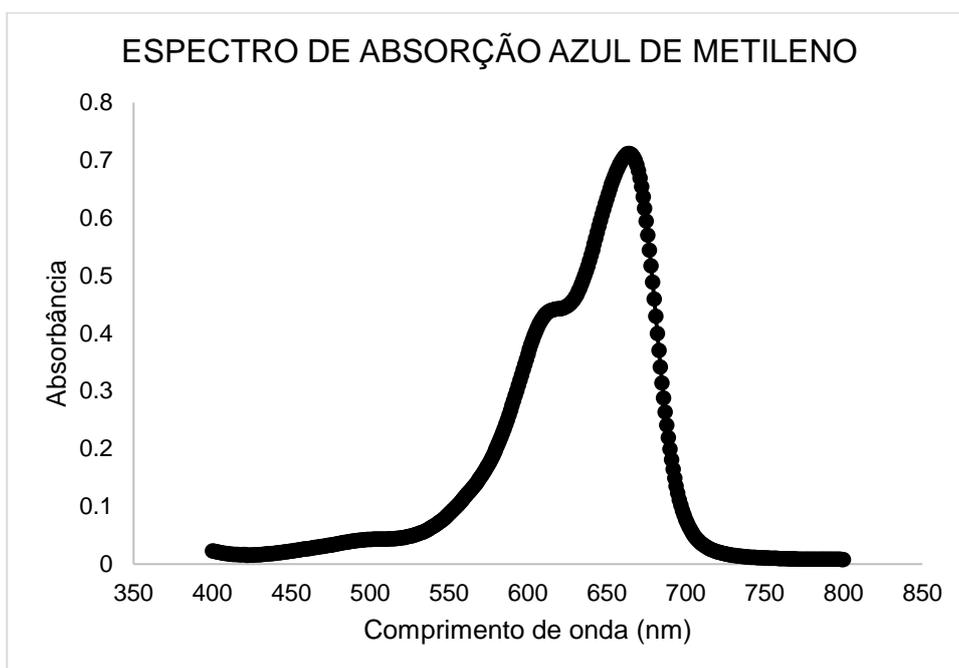
Figura 8: Laser DMC utilizado nos experimentos (A) e o sistema de PDT para irradiação nos poços, com distância de 1 cm entre o fotoabsorvedor e a ponteira do laser (B).



Fonte: Arquivo pessoal

O fotossensibilizador utilizado no estudo foi o azul de metileno (AM), 10 mM a $0,01\%$ (Sigma Aldrich, St. Louis, MO). Na **Figura 9**, observa-se a absorbância do azul de metileno utilizado neste estudo. Para obtê-la, foi empregado o espectrofotômetro T80 UV-VIS Espectrometer (PG Instruments Limited, Woodway lane, Reino Unido).

Figura 9: Espectro de absorção do azul de metileno.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.5. Avaliação composicional

Os espectros na região do infravermelho (4000 a 650 cm^{-1}) foram obtidos com um espectrômetro de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) Frontier (Perkin Elmer, EUA), usando o acessório ATR (refletância total atenuada) com um cristal de diamante. De cada amostra, os espectros foram coletados em uma área central de cada amostra de $1,5\text{ mm}^2$, que corresponde ao tamanho do cristal. Cada espectro teve um espectro de fundo (*background*) subtraído durante a aquisição e foi obtido com 64 varreduras, com resolução de 4 cm^{-1} . A aquisição de espectros foi realizada utilizando o software do FTIR e, após, traçados os gráficos no ORIGIN 8.0 (© OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts, USA), os quais foram centrados na média e desvio padrão.

Foi efetuada uma análise comparativa descritiva para todos os espectros obtidos. A comparação das intensidades das bandas de absorção foi efetuada apenas considerando espectros do mesmo material, e foi realizada após normalização pelo pico de maior intensidade encontrado para cada material. Além dos materiais tratados, foram também avaliados os espectros de absorção dos agentes químicos ácido peracético, hipoclorito de sódio e azul de

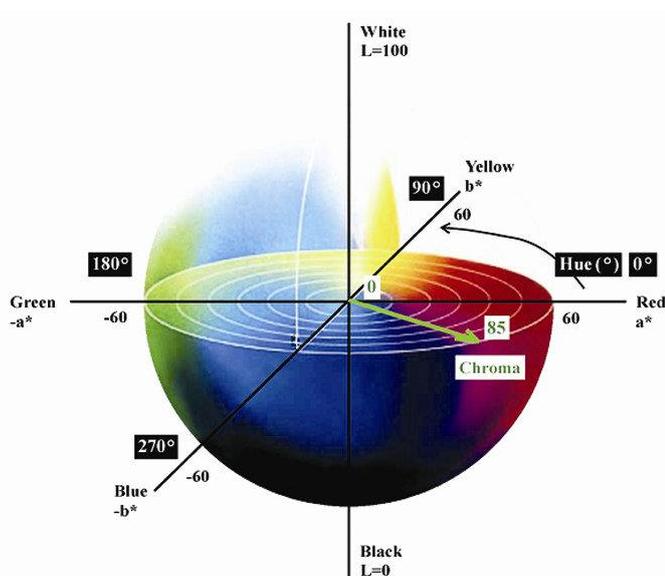
metileno. Para tal, amostras destes agentes foram submetidas a um processo de desidratação e, em seguida, lidas diretamente sobre o cristal do ATR.

5.6. Avaliação das mudanças de cor

Para expressar a cor de um objeto, é comum utilizar os espaços de cor, onde valores numéricos são associados à cor e, com isso, pode-se descrever numericamente como as cores se distribuem em um objeto. Para a análise de cor, um dos métodos que podem ser empregados é o uso da escala CIE $L^*a^*b^*$, estabelecida pela Comissão Internationale de L'Eclairage – CIE⁷³. A escala CIE consiste em um método objetivo para expressar numericamente as cores, se baseando em três eixos cartesianos, cujas coordenadas indicam diferenças numéricas mais uniformes do que as vistas a olho nu, excluindo, dessa forma, ambiguidades e confusões na descrição da cor de um objeto.

Esse espaço, ilustrado na Figura 10, é uma variação do espaço XYZ, com L^* , a^* e b^* como coordenadas. Basicamente, o eixo L^* indica luminosidade (ou claridade), que varia do branco (100) ao preto (0); o eixo a^* varia do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$); e o eixo b^* vai do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$). Os eixos a^* e b^* , ao contrário do eixo L^* , não possuem limites numéricos específicos; eles variam de acordo com a técnica utilizada para analisar a amostra⁷⁴.

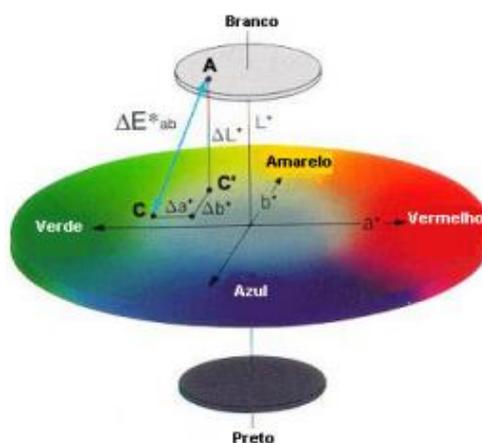
Figura 10: Espaço CIE $L^*a^*b^*$



Fonte: Meunier *et al.*, 2011⁷⁵.

Observando este gráfico, podemos identificar as cores de um objeto analisando as coordenadas que este apresenta. Por exemplo, cores neutras (objetos brancos ou pretos) têm coordenadas próximas a $(L^*, 0, 0)$. Vale ressaltar que valores numéricos dos eixos a e b são definidos de acordo com a técnica que se emprega para captação da cor do objeto⁷⁶. No espaço CIELAB, a diferença total de cor é quantificada em termos de ΔL^* , Δa^* e Δb^* e é encontrada pela expressão ΔE , assim como mostra a Figura 11 (Adaptado de 77).

Figura 11: Diagrama do cálculo do ΔE no diagrama CIELAB.



Fonte: YIMING, 2003⁷⁷.

A determinação da variação de cor é dada pela equação 1:

$$\Delta E_{a,b} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

onde ΔL^* representa a diferença entre mais claro e mais escuro, Δa^* a diferença entre vermelho e verde e Δb^* a diferença entre amarelo e azul. A diferença total de cor é considerada perceptível quando ΔE é maior que 1.

Em geral, usa-se espectrofotômetros ou colorímetros para obtenção destes parâmetros; porém, pode-se realizar uma análise de imagens via softwares de engenharia, como o MatLab® por exemplo. A captação desses parâmetros gera valores para a localização da cor desde objeto em cada um dos eixos, podendo assim se construir um vetor resultante associado à cor

deste objeto. O valor do módulo desse vetor entrega o parâmetro ΔE , que significa a diferença total de cor entre uma imagem e seu padrão.

Neste trabalho, as análises de cor foram efetuadas adaptando-se as metodologias de CAL *et al.*, (2006 p. 221-228) e OKUBO *et al.*, (1998 p. 642-648). Para tal, foram obtidas fotos digitais, empregando-se câmera CCD científica mvBlueFOX120a (Matrix Vision, Alemanha) e uma lente objetiva modelo #53-301 (Edmund Optics, USA). A câmera é mantida fixa ladeada por um sistema de iluminação composto por três LEDs brancos dispostos de forma concêntrica e com distância padronizada evitando-se áreas de sombra. A câmera, o sistema de iluminação e o suporte da amostra estão posicionados dentro de uma estrutura sob a forma de uma caixa preta fosca e totalmente fechada.

Antes do início da aquisição das imagens e depois a cada 10 imagens tomadas, foi realizada a aferição da potência óptica emitida pelos LEDs com o uso de um medidor de potência (FieldMaxII, Coherent, USA), o que garantiu a padronização da emissão dos diodos. Para possibilitar o estudo comparativo entre as amostras do presente estudo, foi empregada uma mesma amostra referência para todas as imagens (uma amostra referência para máscaras e uma amostra referência para extensões), a qual foi mantida seca e na mesma posição. Desta forma, para todas as imagens, as amostras foram posicionadas duas a duas (amostra teste e amostra referência), em posição padronizada lado a lado, numa marca feita na placa suporte de amostras, para garantir que, em todas as aquisições, a energia recebida por cada uma delas tivesse a menor variação possível.

Para aquisição das imagens, foi empregado o software de captura wxPropView (driver version 2.5.17.1054) para o ambiente Labview®. O ganho de câmera e tempo de exposição foram ajustados em 10 dB e $10^6 \mu s$, respectivamente. As imagens foram salvas em formato *bitmap*. Para a análise das imagens, foi elaborada rotina em ambiente MATLAB® para calcular os valores de a^* , b^* , L^* e ΔE , que indica se houve mudanças na cor das amostras de acordo com a relação $\Delta E^*_{ab} = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$.

5.7 Análise estatística

Os dados composicionais obtidos por FTIR foram avaliados de forma qualitativa descritiva após normalização dos espectros pelos picos de maior intensidade de cada material (máscara e extensão).

Os valores de ΔE , ΔL , Δa e Δb foram, primeiramente, submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variâncias, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e D'Agostino-Pearson. Como todos os dados resultaram em distribuição não normal das variâncias, foi empregado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste *post hoc* de Student-Newmann-Keuls, ao nível de significância de 5%. As análises foram efetuadas empregando-se o software GraphPad Prism 8.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora o ácido peracético e hipoclorito sejam agentes tradicionais para descontaminação de máscaras e extensões, eles ainda apresentam efeitos colaterais tanto para as pessoas que manipulam quanto para os materiais^{1,6-14, 53-57}, podendo causar degradação dos mesmos, assim como risco para o usuário do dispositivo ao inalar resíduos do produto utilizado para desinfecção, se este não for enxaguado abundantemente^{1,6-14, 53-57}. Neste contexto, a PDT pode ser uma técnica interessante, pois a literatura relata bons resultados na inativação de diferentes tipos de microrganismos^{16-19,21-22, 27-30}, com ausência de efeitos colaterais^{15,20,21,24,28,30}. Porém ainda não se sabe os efeitos da PDT sobre a durabilidade dos materiais hospitalares, principalmente em um uso em longo prazo.

Neste trabalho, optou-se pelo uso da PDT com azul de metileno^{16,18-20,28,29} tendo em vista que este fotossensibilizador possui eficiência comprovada para diferentes microrganismos, farmacocinética favorável, baixa toxicidade, elevada estabilidade, fácil obtenção, solubilidade e baixo custo quando comparado aos fotossensibilizadores disponíveis no mercado^{20,24,28,30}. O azul de metileno é um interessante fotossensibilizador devido sua alta absorção de luz na região do vermelho a qual possui boa penetração nos tecidos biológicos^{16,21,24,30}.

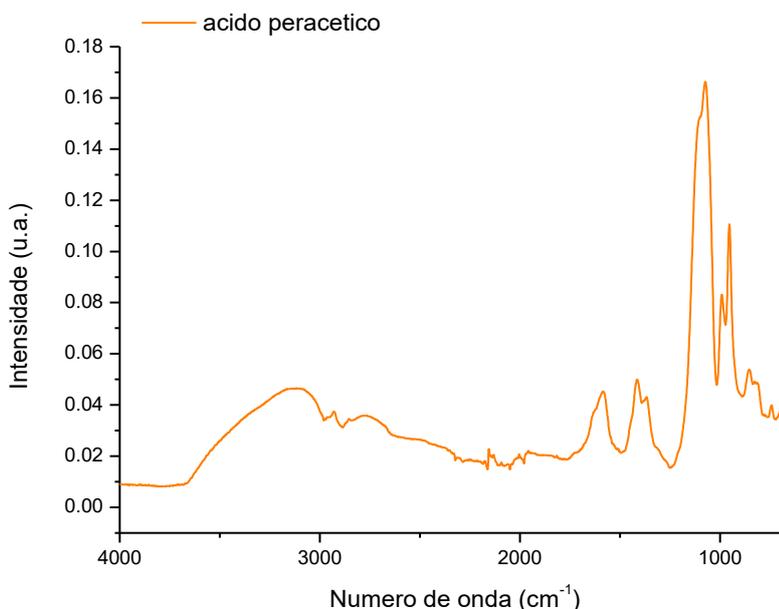
A seguir são descritas as variações composicionais e colorimétricas proporcionadas pela PDT, ácido peracético e hipoclorito de sódio em máscaras e extensões hospitalares. Estes dispositivos são empregados na terapêutica de afecções do trato respiratório, sendo estabelecido realizar limpeza precedido de desinfecção. Entram em contato com mucosa e pele do paciente e tornam-se fonte de contaminação e infecção cruzada.

6.1 Avaliação composicional

A Figura 12 mostra o espectro de absorção, na região do infravermelho médio, do ácido peracético na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} , enquanto que a Figura 13 apresenta a identificação das principais bandas de absorção na região entre 1800 e 650 cm^{-1} . É possível notar a presença de bandas características da ligação C=C (1645 cm^{-1} a 1675 cm^{-1}), de ligações C=C de aromáticos (entre 1600 cm^{-1} a 1450 cm^{-1}), C-O de ácidos carboxílicos (1420 cm^{-1} a 1200 cm^{-1}), S=O de sulfóxidos (S=O) e aminas (C-N) (abaixo de 1100 cm^{-1}), assim como a presença de dobramento fora do plano de C-H aromáticos (bandas entre 900 cm^{-1} e 6909 cm^{-1}).

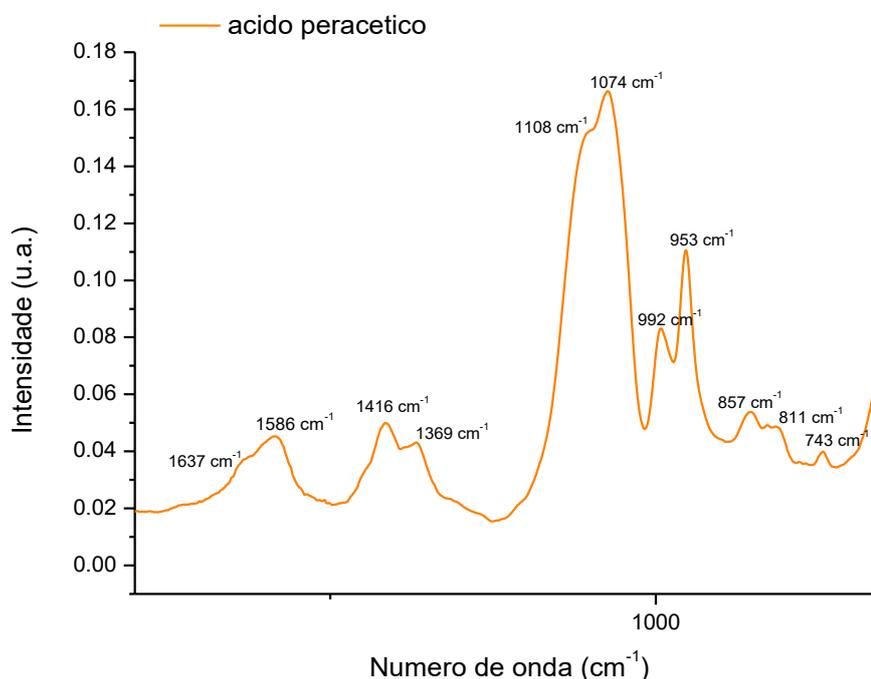
O ácido peracético, composto de fórmula molecular $\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$, é uma mistura de ácido acético (CH_3COOH) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em uma solução aquosa. O espectro FTIR obtido no presente estudo confirma tal composição pois, além de apresentar as bandas características deste agente, ainda é observada a presença de água, na região de 3000 a 3600 cm^{-1} .

Figura 12 - Espectro médio de absorção no infravermelho do ácido peracético empregado no presente estudo, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

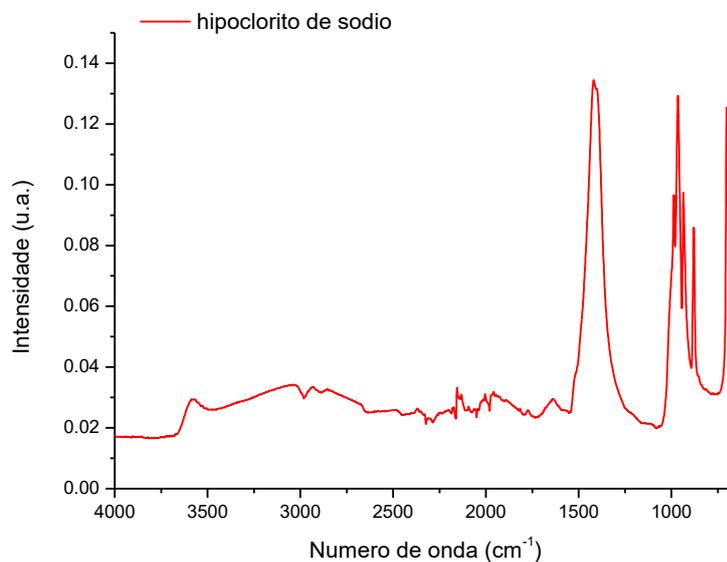
Figura 13 - Espectro médio de absorção no infravermelho do ácido peracético empregado no presente estudo, na região compreendida entre 1800 – 650 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Elaborado pela autora.

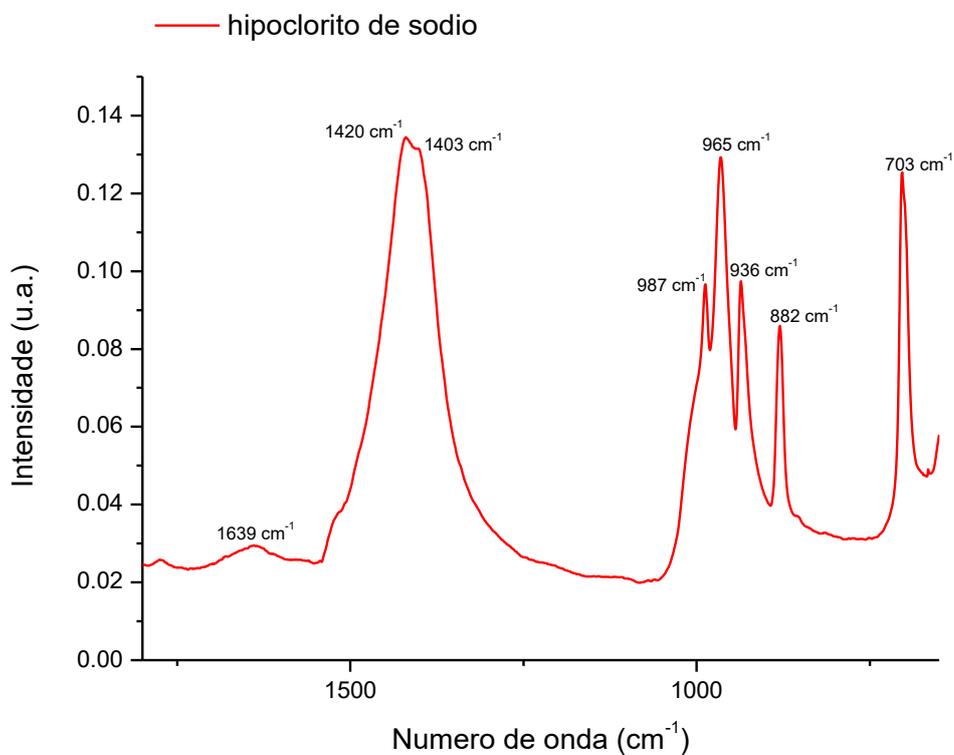
As Figuras 14 e 15 apresentam o espectro de absorção, na região do infravermelho médio, do hipoclorito de sódio na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} e 1800 e 650 cm^{-1} , respectivamente. É possível notar picos na região de 3600 cm^{-1} , 1639 cm^{-1} , 1420 cm^{-1} , 1403 cm^{-1} , 987 cm^{-1} , 965 cm^{-1} , 936 cm^{-1} , 882 cm^{-1} e 703 cm^{-1} , assim como uma larga banda na região de 3000 cm^{-1} . O hipoclorito de sódio é um forte agente oxidante, de fórmula molecular NaClO . Os espectros obtidos no presente estudo concordam com achados prévios da literatura⁹³, nos quais foram observadas vibrações características do grupamento hidroxila (OH) em torno de 3080 cm^{-1} , o que indica a presença de água no composto avaliado. Ainda, foi possível notar a presença de bandas correspondentes ao estiramento C-H alifático (2927 cm^{-1} e 2854 cm^{-1}), assim como bandas na região de 1600 cm^{-1} , as quais correspondem às vibrações de estiramento das ligações de grupos carbonílicos (C=O) e bandas entre 1400 cm^{-1} e 1259 cm^{-1} , correspondentes aos estiramentos C-O.

Figura 14 - Espectro médio de absorção no infravermelho do hipoclorito de sódio empregado no presente estudo, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

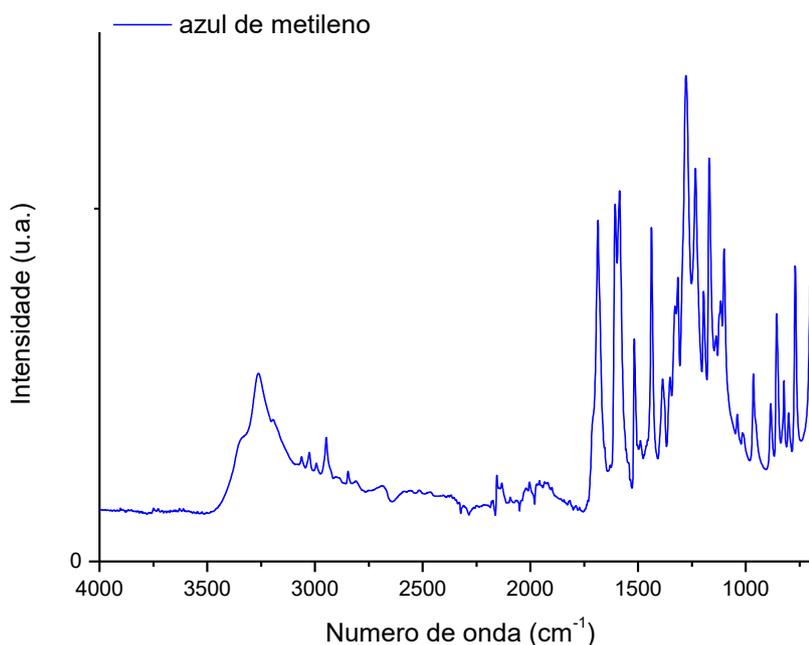
Figura 15 - Espectro médio de absorção no infravermelho do hipoclorito de sódio empregado no presente estudo, na região compreendida entre 1800 – 650 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Elaborado pela autora.

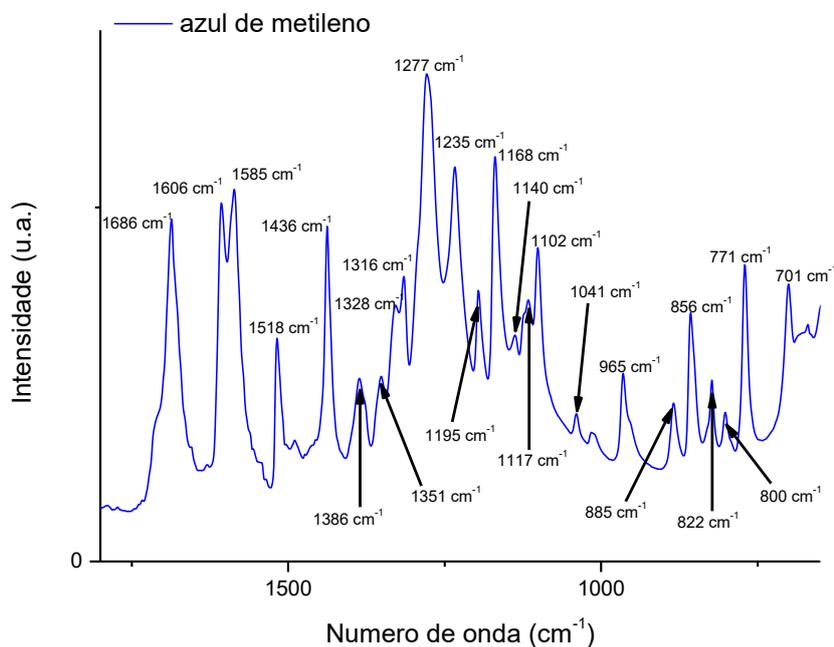
As Figura 16 e 17 mostram o espectro de absorção no infravermelho do azul de metileno empregado no presente estudo. Nota-se a presença de picos de absorção entre 3000 cm^{-1} e 3500 cm^{-1} , as quais correspondem à presença de água na solução empregada. Ainda, observam-se picos em 1686 cm^{-1} , 1606 cm^{-1} , 1585 cm^{-1} , 1518 cm^{-1} , 1436 cm^{-1} , 1386 cm^{-1} , 1351 cm^{-1} , 1328 cm^{-1} , 1316 cm^{-1} , 1277 cm^{-1} , 1235 cm^{-1} , 1195 cm^{-1} , 1168 cm^{-1} , 1140 cm^{-1} , 1117 cm^{-1} , 1102 cm^{-1} , 1041 cm^{-1} , 965 cm^{-1} , 885 cm^{-1} , 856 cm^{-1} , 822 cm^{-1} , 800 cm^{-1} , 771 cm^{-1} e 701 cm^{-1} . O azul de metileno é um sal de cloreto orgânico de fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$, também pode ser denominado de *Methylthioninium chloride*, *3,7-Bis(dimethylamino)phenothiazinium chloride* ou *Tetramethylthionine chloride*. Os picos observados no presente estudo coincidem com os achados da literatura^{92,94}.

Figura 16 - Espectro médio de absorção no infravermelho do azul de metileno empregado no presente estudo, na região compreendida entre $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 17 - Espectro médio de absorção no infravermelho do azul de metileno empregado no presente estudo, na região compreendida entre 1800 – 650 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.

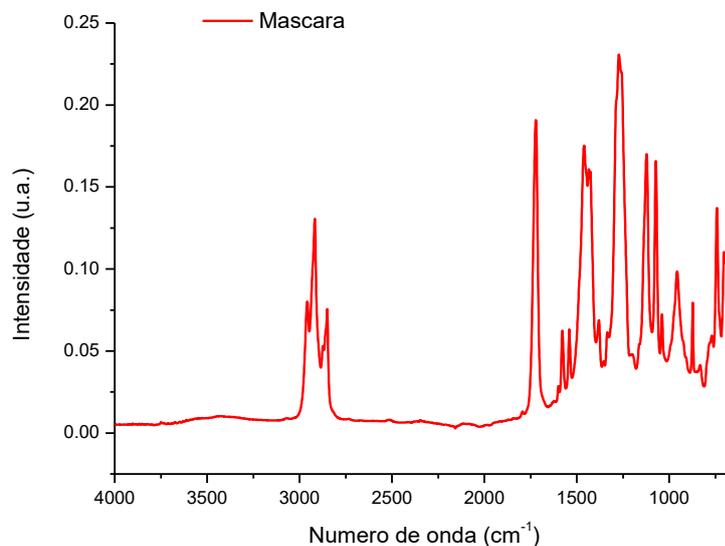


Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 18 ilustra o espectro médio de absorção no infravermelho das máscaras de nebulização empregadas neste estudo. A identificação das principais bandas de absorção compreendidas entre 3250 – 2500 cm^{-1} e 1800 a 650 cm^{-1} encontra-se nas Figuras 19 e 20, respectivamente. A identificação dos grupos funcionais correspondentes a cada pico está detalhada na Tabela 2.

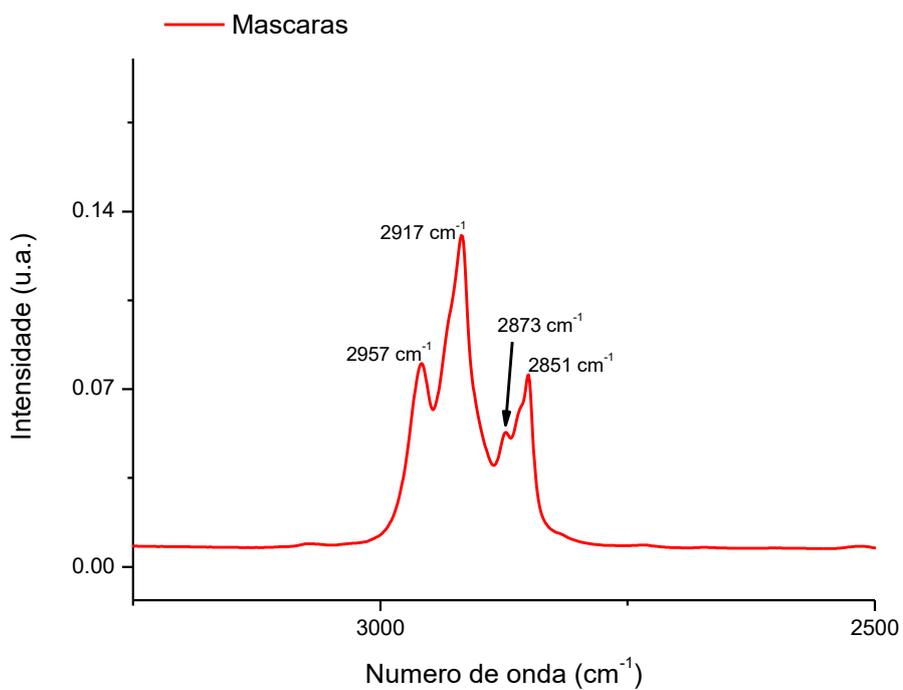
A Figura 21 ilustra o espectro médio de absorção no infravermelho das extensões hospitalares empregadas neste estudo. A identificação das principais bandas de absorção compreendidas entre 3250 – 2500 cm^{-1} e 1800 a 650 cm^{-1} encontra-se nas Figuras 22 e 23, respectivamente.

Figura 18: Espectro médio de absorção no infravermelho das máscaras de nebulização empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} .



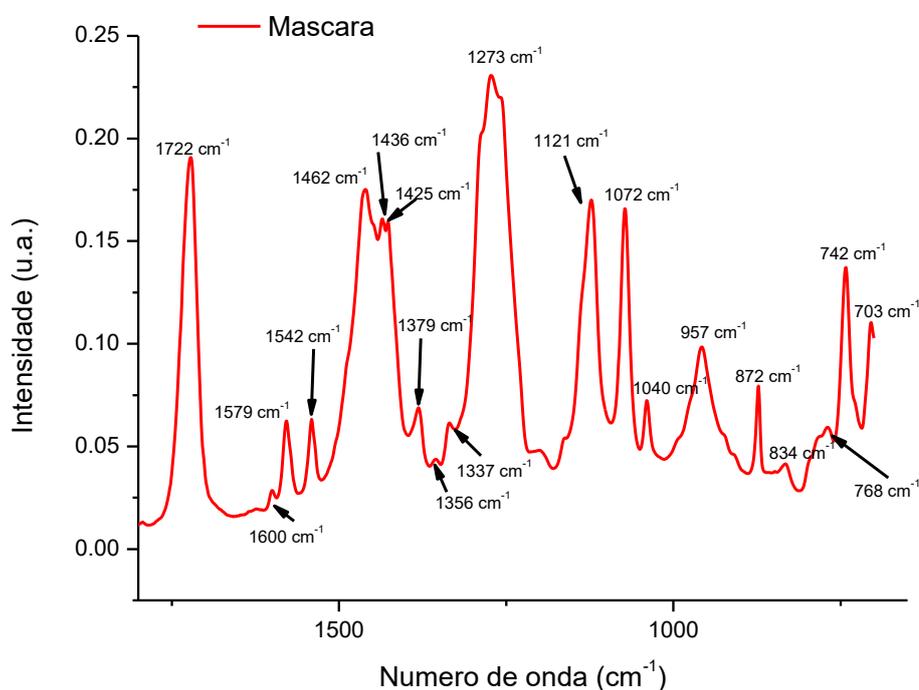
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 19 - Espectro médio de absorção no infravermelho das máscaras de nebulização empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 20 - Espectro médio de absorção no infravermelho das máscaras de nebulização empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



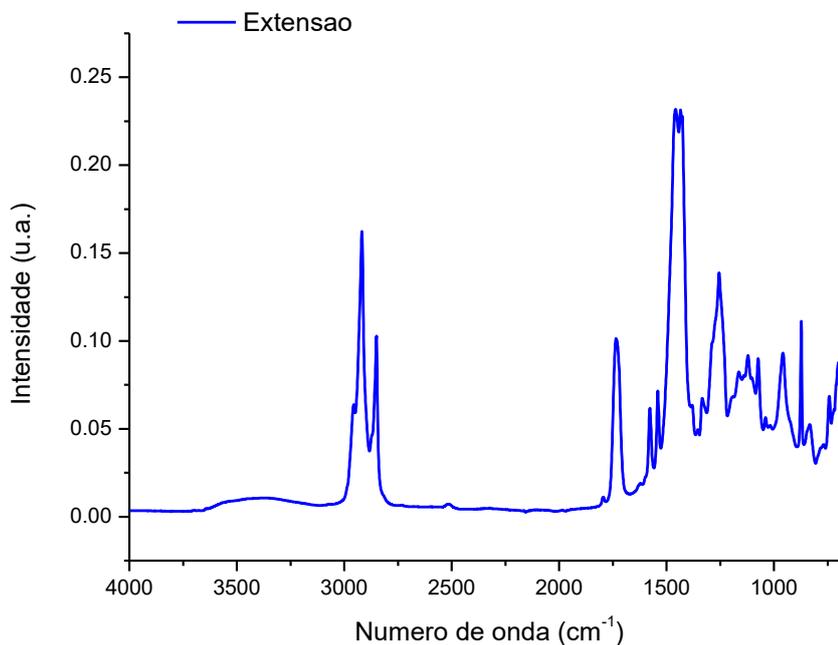
Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 2 - Identificação dos grupos funcionais correspondentes a cada pico de absorção identificado nas análises de FTIR^{80-84,95,96}.

Pico (cm^{-1})	Grupo funcional
2957	CH_3 – estiramento assimétrico
2917	CH_2 – estiramento assimétrico
2873	CH_3 – estiramento simétrico
2851	CH – estiramento
1734	$\text{C}=\text{O}$ - estiramento
1600	$\text{C}-\text{C}$ aromático – estiramento
1579	$\text{C}-\text{C}$ aromático – estiramento
1542	$\text{C}=\text{C}$ anel quinonoídico – estiramento
1462	CH_2 , CH_3 , $\text{C}-\text{C}$ aromático – deformação angular simétrica, deformação angular assimétrica e estiramento, respectivamente
1436	CH_2Cl – deformação angular
1425	CH_2Cl – deformação angular
1380	CH_3 – deformação angular simétrica
1354	CH_3 – deformação angular
1276	CO éster aromático – estiramento
1121	CO éster aromático – estiramento
1072	CO éster aromático – estiramento
873	$\text{C}-\text{H}$ substituição aromática – deformação angular
744	$\text{C}-\text{C}$ deformação angular em anel ortossustituído

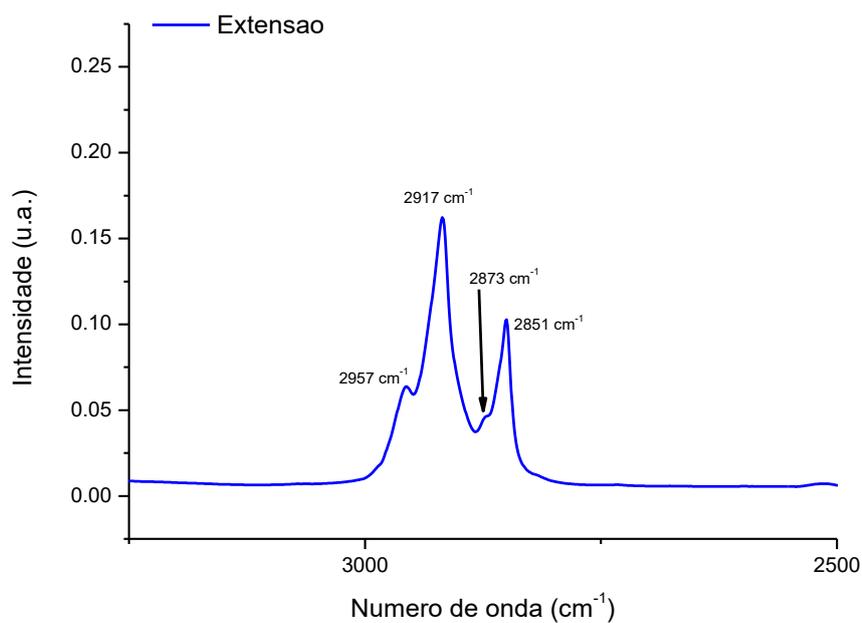
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 21 - Espectro médio de absorção no infravermelho das extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} .



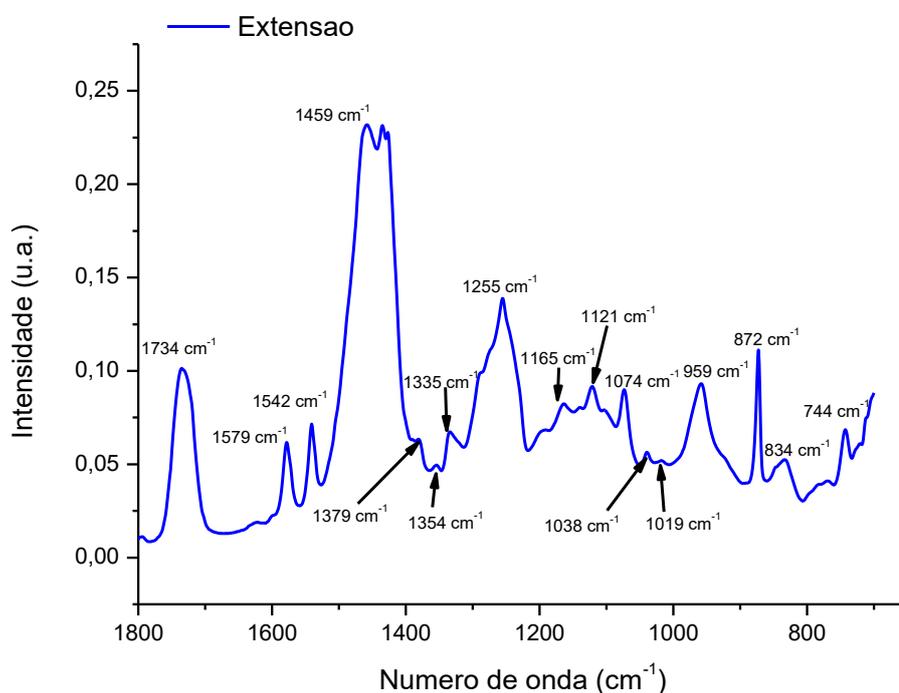
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 22 - Espectro médio de absorção no infravermelho das extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Elaborado pela autora.

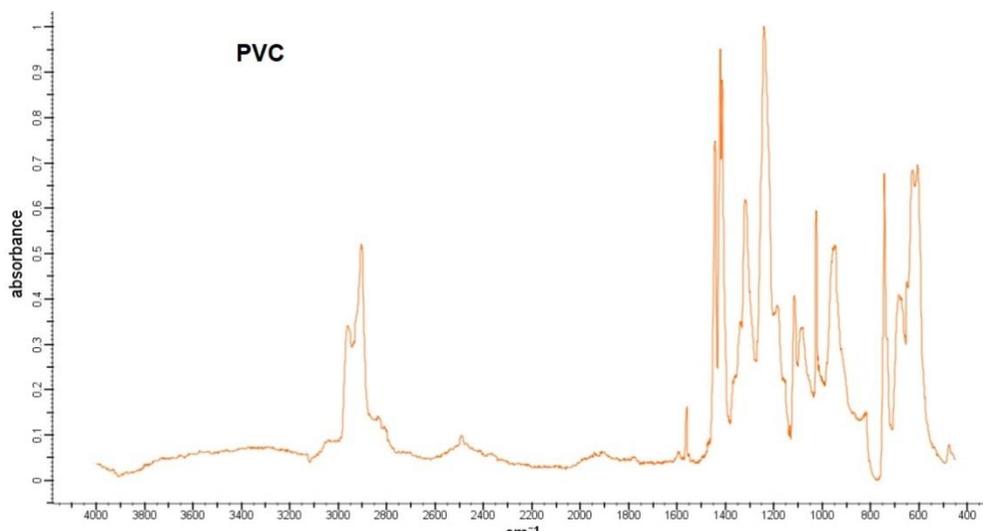
Figura 23 - Espectro médio de absorção no infravermelho das extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} , com a identificação das principais bandas de absorção.



Fonte: Elaborado pela autora.

Os espectros obtidos no presente estudo, tanto das máscaras quanto das extensões, são bastante semelhantes entre si e sugestivos de materiais compostos majoritariamente de PVC, tal como reportado na literatura. A literatura mostra que o PVC apresenta picos característicos em 1250 cm^{-1} , referente à deformação angular simétrica fora do plano de $\text{CH}_2\text{-Cl}$ e duas bandas, uma em 695 cm^{-1} e outra em 625 cm^{-1} , referente à deformação axial da ligação C-Cl (Figura 24). Também é observada a banda referente à deformação axial de C-H em aproximadamente 2900 cm^{-1} ⁸⁵, o que condiz com o presente estudo. O PVC, material bastante versátil dentre os plásticos, é um polímero instável decomposto principalmente pela eliminação de HCl a temperaturas relativamente baixas ou sob a influência da luz, radiação ultravioleta, entre outros. A ligação carbono-cloro é a primeira a ser quebrada, esta reação leva a formação de ligações duplas com a retirada de HCl⁸⁶⁻⁸⁸, pode ocasionar a alteração da cor do polímero para amarelado ou marrom.

Figura 24 – Espectro de absorção no infravermelho de uma amostra de PVC puro de acordo com a literatura.



Fonte: SpectraBase, 2019⁸⁹.

Segundo autores⁹⁰, o mecanismo de degradação do PVC é baseado na cadeia com radicais livres. O início da degradação térmica se dá provavelmente pela perda de um átomo de cloro adjacente em função de alguma anormalidade estrutural da cadeia, como uma instauração terminal, que reduz a estabilidade da ligação C-Cl. O radical cloro formado subtrai um hidrogênio formando HCl e a cadeia reativa resultante reage para formar uma instauração com a geração de um novo radical cloro. Em seguida, outro hidrogênio é removido, formando HCl e cadeias poliênicas (sequências de ligações carbono-carbono duplas e simples) são formadas.

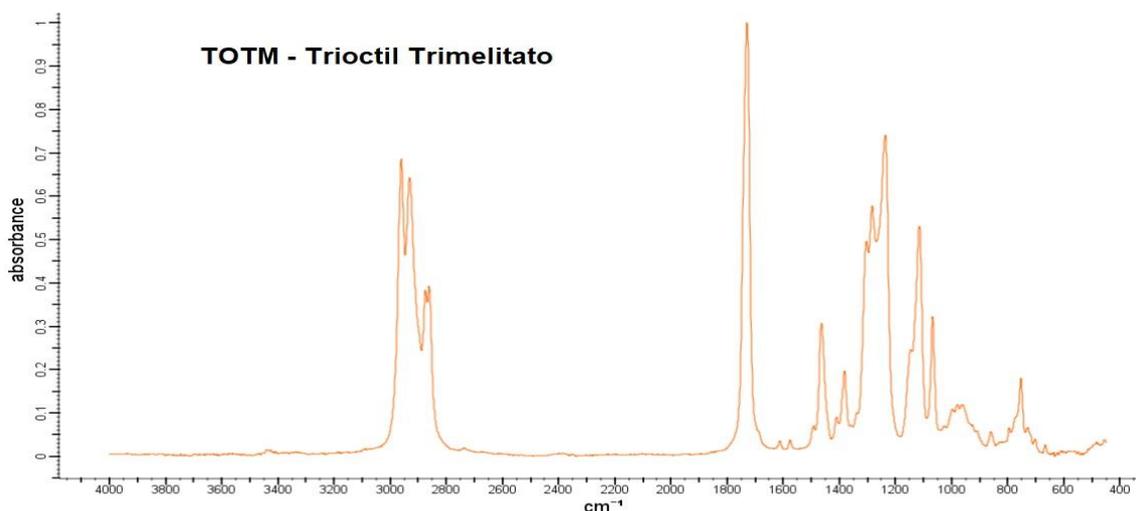
O PVC pode ser classificado em rígido ou flexível. A resina de PVC é naturalmente rígida. Para gerar compostos flexíveis, é necessária a adição de plastificantes. Os plastificantes usados no PVC podem ser divididos em dois grupos principais, de acordo com a sua parte não polar. O primeiro grupo consiste em plastificantes contendo grupos polares ligados a anéis aromáticos, chamados grupos aromáticos polares. Estão incluídos neste grupo ésteres de ácido ftálico e fosfato de tricresilo. Sugere-se que estas substâncias formam uma ligação entre átomos de cloro pertencentes a duas cadeias poliméricas ou dois cloros da mesma cadeia. Este tipo de plastificante é introduzido facilmente

na matriz polimérica e produz gelatinização rápida, podendo ser utilizado em temperaturas relativamente baixas⁹⁰.

O segundo grupo consiste em plastificantes com grupo polar ligado a cadeias alifáticas e são chamados de grupo alifático polar. Os álcoois alifáticos e ésteres ácidos ou alquilo do ácido fosfórico (como o fosfato de trioctilo) são partes deste grupo. O grupo polar interage com os sítios polares do polímero e, como a sua parte alifática é bastante volumosa, acaba reduzindo a interação molecular entre as cadeias do PVC⁸⁹. Outros plastificantes de PVC bastante utilizados em produtos para saúde são o Di-isononilftalato (DINP) e o Trioctiltrimelitato (TOTM). A estrutura destas duas substâncias possui anel aromático e grupamento éster⁹¹.

A Figura 25 mostra um espectro de absorção no infravermelho do trioctil trimelitato (TOTM), um plastificante comumente empregado nos dispositivos médico-hospitalares, obtido da literatura. Na comparação entre este espectro e os espectros das máscaras e extensões é possível notar a coincidência dos picos 1750 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} e 1180 cm^{-1} ⁹², os quais sugerem a presença deste material nas amostras analisadas.

Figura 25 - Espectro de absorção no infravermelho do trioctil trimelitato de acordo com a literatura.

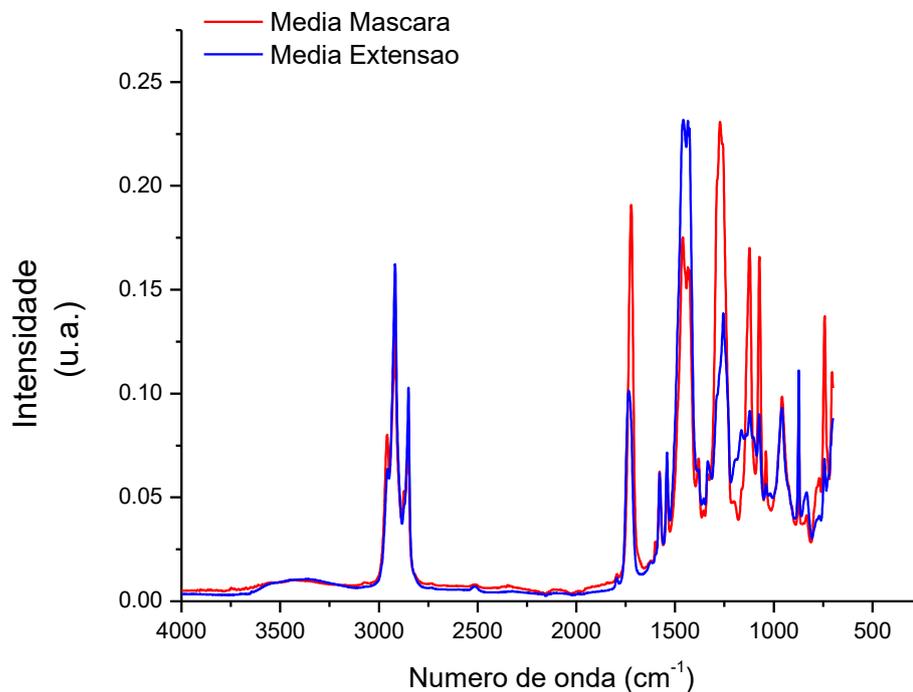


Fonte: Spectra Base, 2019⁹¹.

Na comparação entre os espectros, normalizados vetorialmente, obtidos com os dois tipos de amostra (máscara e extensão, Figura 26), observa-se que as intensidades de alguns picos em comum também diferem. De acordo com a Figura 27, os picos 2957 cm^{-1} e 2873 cm^{-1} aparentam maior intensidade nas amostras de máscara, enquanto que os picos 2917 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} aparentam maior intensidade nas amostras de extensão. Na Figura 28, é possível observar que os picos de maior intensidade de cada material também diferem, sendo o pico 1462 cm^{-1} o mais intenso nas amostras de extensão e o pico 1273 cm^{-1} o mais intenso nas amostras de máscara. Tais diferenças podem ser devidas ao plastificante empregado para os dois materiais, o que pode originar as diferenças na coloração observada entre eles (verde para máscaras e transparente para extensões) e também nas suas propriedades mecânicas, tais como maleabilidade.

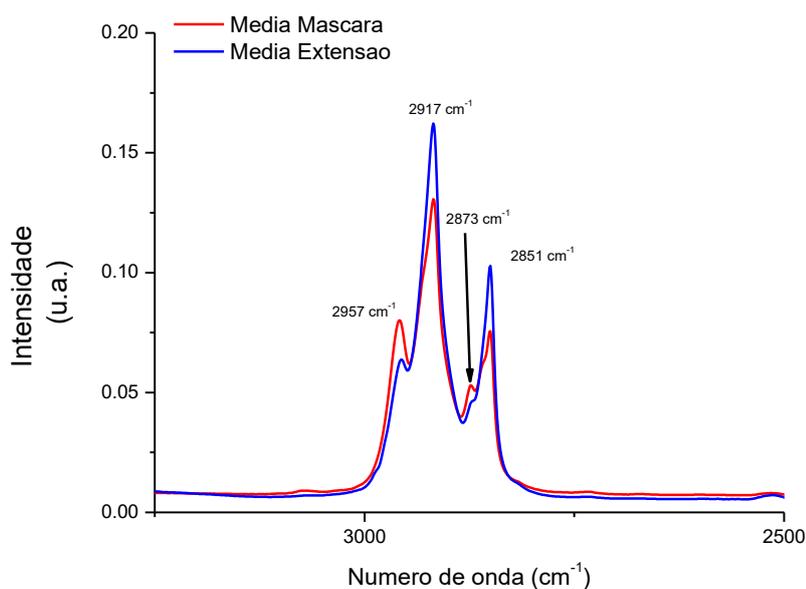
As diferenças na composição dos dois materiais analisados no presente estudo dificultam a comparação quantitativa entre os materiais, pois impede que a normalização dos espectros seja feita considerando as mesmas bandas de absorção (normalmente efetuada considerando a banda de maior intensidade ou maior estabilidade frente a um tratamento qualquer). Desta maneira, a comparação das intensidades será efetuada apenas avaliando-se a interferência dos tratamentos (ácido peracético, hipoclorito de sódio ou terapia fotodinâmica) individualmente em cada uma das amostras (máscara ou extensão), considerando-se, para normalização espectral, a banda que apresentou maior intensidade em cada material. Para as máscaras, a normalização foi feita considerando a banda em 1272 cm^{-1} e, para as extensões, a normalização dos espectros foi feita considerando a banda em 1255 cm^{-1} .

Figura 26 - Espectro médio de absorção no infravermelho comparativo entre as máscaras e extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros normalizados vetorialmente.



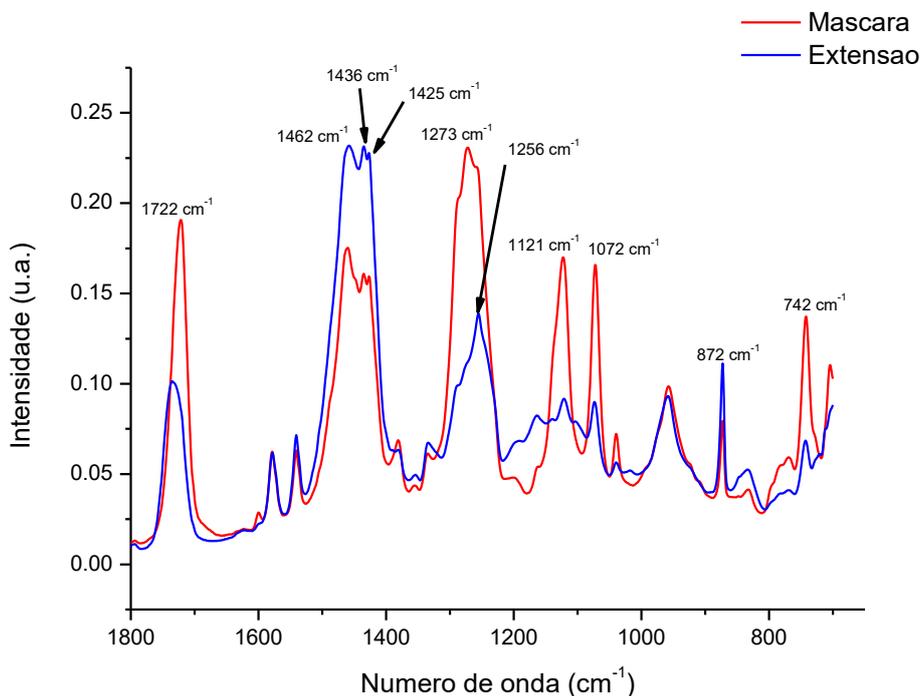
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 27 - Espectro médio de absorção no infravermelho comparativo entre as máscaras e extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados vetorialmente.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 28 - Espectro médio de absorção no infravermelho comparativo entre as máscaras e extensões empregadas no presente estudo, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados vetorialmente.

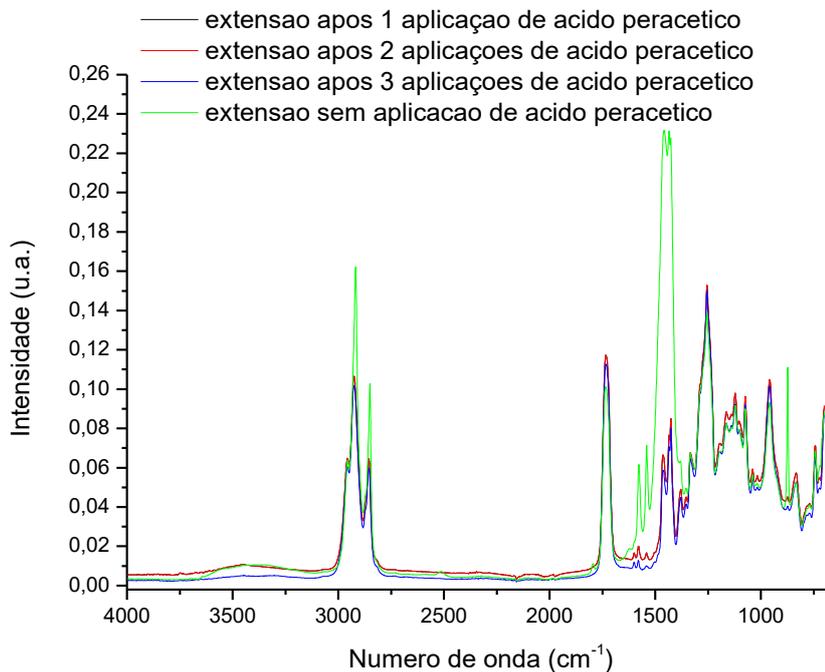


Fonte: Elaborado pela autora.

6.1.1. Efeitos do ácido peracético

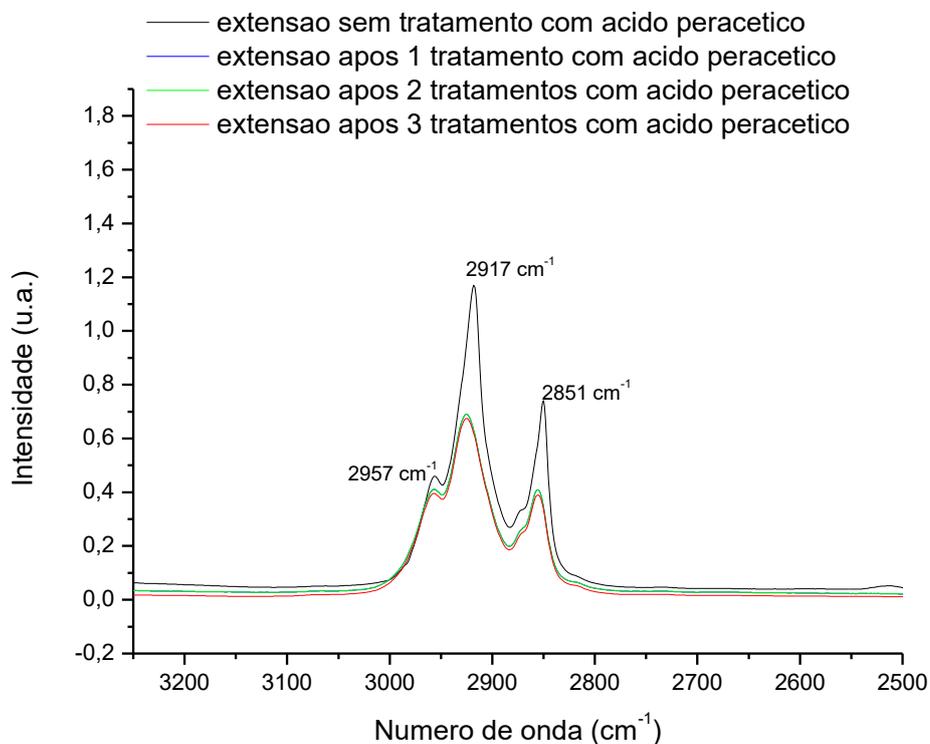
A Figura 29 mostra os espectros médios de FTIR das amostras de extensão após tratamento com ácido peracético. É possível observar alterações na intensidade de algumas bandas de absorção do material após aplicação do agente testado. Na Figura 30, após normalização dos espectros, é possível confirmar que a aplicação do ácido peracético reduziu a intensidade dos picos 2957 cm^{-1} , 2917 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} , os quais correspondem aos estiramentos assimétrico do CH_3 , do CH_2 e estiramento simétrico do CH_3 , respectivamente. Esta redução ocorreu de forma similar para todas as repetições de tratamentos, ou seja, a aplicação de 1, 2 ou 3 vezes não ocasionou diferenças significativas na redução da intensidade destas bandas. Tal fato sugere que o ácido peracético modifica a composição do material, e que este fenômeno já ocorre em apenas uma única exposição ao agente, sendo que as repetições não exercem efeito adicional na microestrutura do material.

Figura 29 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros não normalizados.



Fonte: Elaborado pela autora.

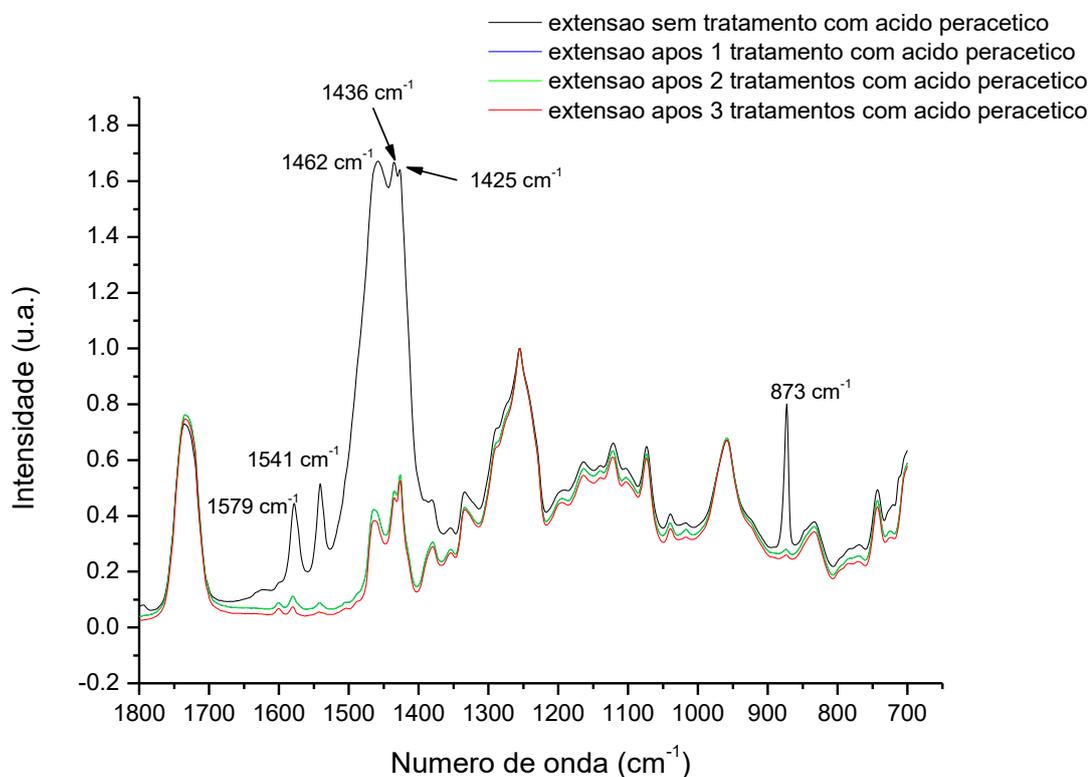
Figura 30 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Na Figura 31 é possível observar que a aplicação de ácido peracético reduziu significativamente a intensidade dos picos 1579 cm^{-1} (estiramento C-C aromático, 1541 cm^{-1} (estiramento C=C anel quinonoídico), 1462 cm^{-1} (deformação angular simétrica do CH_2), 1436 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl) e 1425 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl)⁸⁴. O pico 873 cm^{-1} (substituição aromática do CH) teve seu completo desaparecimento após todos os tratamentos. Da mesma maneira que o observado na Figura 30, o número de aplicações não interferiu na intensidade dos picos, ou seja, a exposição por 1, 2 ou 3 repetições não ocasionou alterações adicionais nas amostras de extensão. Não houve o surgimento de novas bandas, assim como não houve o deslocamento dos picos, o que indica que possivelmente não houve adsorção do agente no material. Ainda, não foi observado aumento na intensidade de nenhum dos picos. Contudo, a redução da intensidade dos picos sugere uma alteração na composição química do material, que pode resultar na degradação do mesmo com o decorrer do tempo.

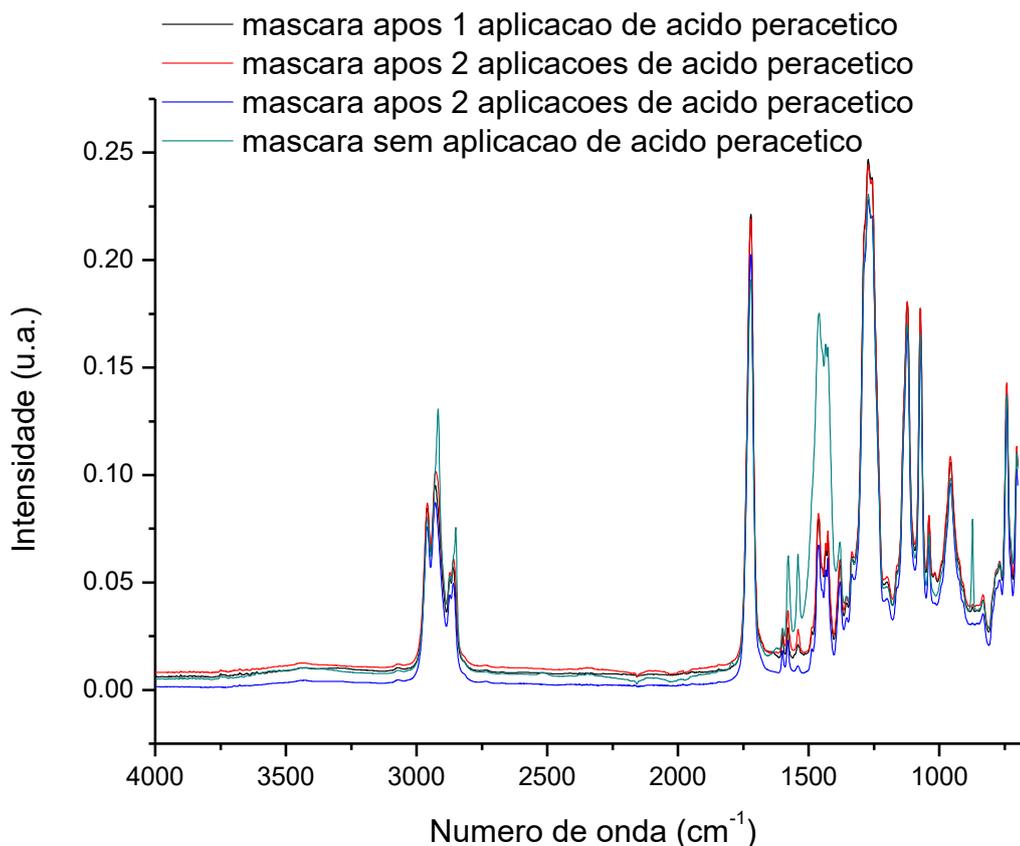
Figura 31 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pela banda de absorção com pico em 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

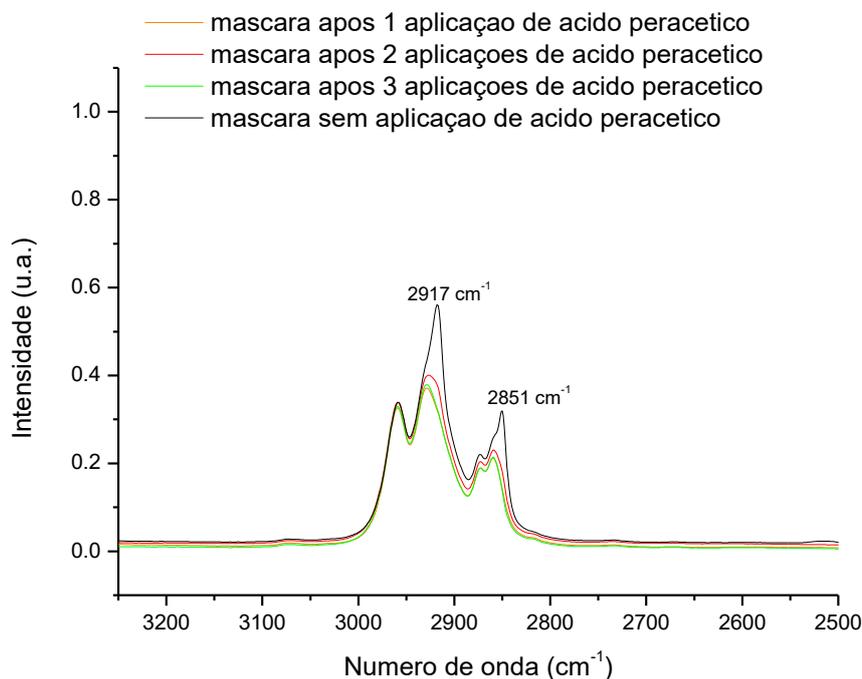
Nas amostras de máscara tratadas, a exposição ao ácido peracético também ocasionou possíveis alterações composicionais, as quais podem ser visualizadas de forma geral na Figura 32. Após normalização dos dados, observa-se, pela Figura 33, que este agente promoveu redução na intensidade dos picos 2917 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} , os quais correspondem ao estiramento assimétrico do CH_2 e estiramento do CH , respectivamente. Diferentemente do ocorrido nas amostras de extensão, o ácido peracético não alterou a intensidade do pico 2957 cm^{-1} , correspondente ao estiramento assimétrico do CH_3 . Porém, da mesma forma que o observado para as amostras de extensão, o aumento do número de repetições não promoveu alterações adicionais nas intensidades dos picos.

Figura 32 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$. Espectros não normalizados.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 33 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .

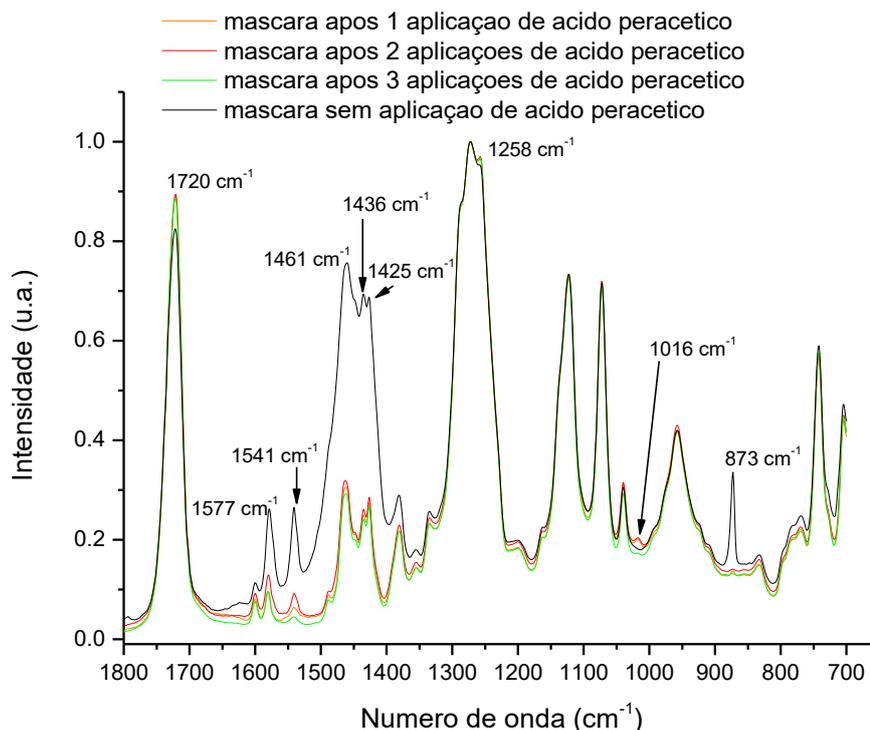


Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 34 ilustra os espectros médios obtidos das amostras de máscara antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 1800 cm^{-1} a 650 cm^{-1} . Da mesma forma que o ocorrido com as amostras de extensão, o pico localizado em 873 cm^{-1} também teve seu completo desaparecimento após todos os tratamentos com ácido peracético. Ainda, é possível notar redução significativa na intensidade dos picos localizados em 1577 cm^{-1} (estiramento C-C aromático), 1541 cm^{-1} (estiramento C=C anel quinonoídico), 1461 cm^{-1} (deformação angular assimétrica do CH_2), 1436 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl) e 1425 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl), da mesma forma que o ocorreu com as amostras de extensão. Ainda, a quantidade de tratamentos não promoveu efeitos adicionais nas extensões, da mesma forma que o observado para as máscaras. Não houve também o surgimento de novas bandas ou deslocamento dos picos, o que sugere que não houve adsorção do agente no material; porém foi possível observar aumento na intensidade do pico localizado em 1720 cm^{-1} , 1258 cm^{-1} e 1016 cm^{-1} , os quais correspondem a CH aromático, deformação simétrica do CH_3 e

ligações C=O, os quais provavelmente estão relacionados ao plastificante, tendo em vista que não são picos comumente encontrados em amostras de PVC puro.

Figura 34 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com ácido peracético, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

O ácido peracético, também denominado de acetil hidroperóxido ou ácido peroxiacético, trata-se de um líquido incolor, com pH ácido que possui alto teor oxidante, apresentando-se corrosivo para metais. Na sua decomposição, origina ácido acético, água e oxigênio. Sua ação antimicrobiana dá-se pela liberação de oxigênio que pode agir em moléculas de DNA e interagir com ligações de enxofre de proteínas e enzimas celulares, podendo interromper a função osmótica e o transporte de lipoproteínas de membranas citoplasmáticas; desta forma, pode causar ruptura da parede celular de bactérias^{97,98}. Neste estudo, observamos que o ácido peracético promove alterações composicionais tanto nas máscaras quanto nas extensões hospitalares, porém de forma não dependente da quantidade de exposições,

efeitos que se devem provavelmente à liberação de oxigênio ativo nos sítios de aplicação. Estes resultados discordam dos resultados reportados por Poletto et al. (2016)⁹⁹, os quais relataram que este agente não acarreta em alterações composicionais e de rugosidade em tubos endotraqueais, também compostos por PVC, mesmo após 3 exposições de 20 minutos cada. Contudo, no trabalho supracitado, não foi efetuada uma análise semi-quantitativa como a efetuada no presente estudo, mas sim uma evidenciação da presença e localização das bandas de absorção. Assim, se formos considerar esta mesma análise, os resultados do presente estudo corroboram os de Poletto et al. (2016)⁹⁹ pois não houve o surgimento de novas bandas.

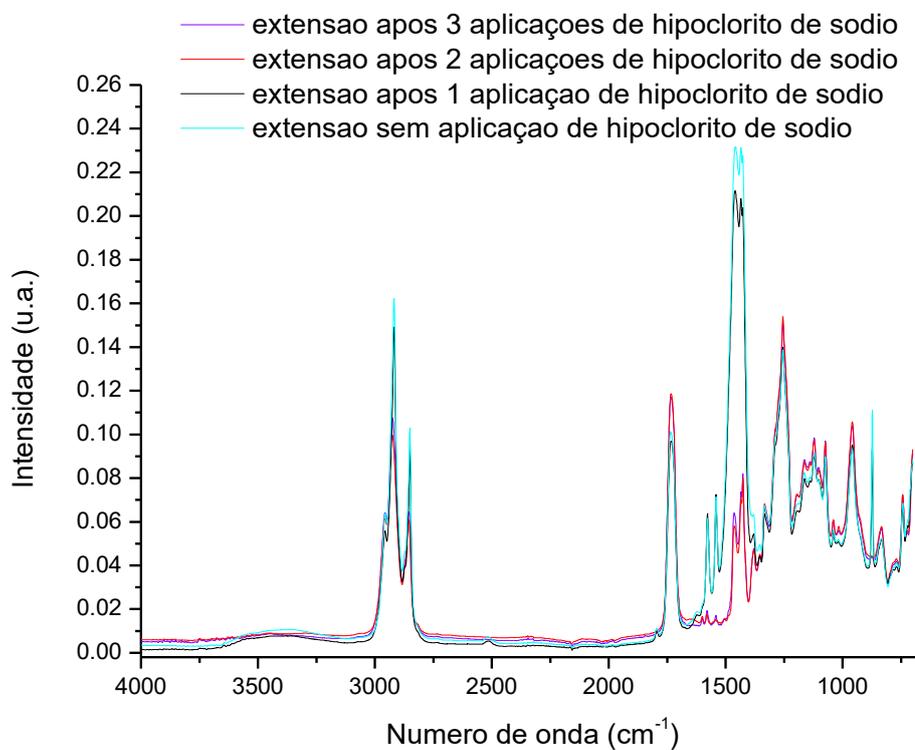
6.1.2. Efeitos do hipoclorito de sódio

A Figura 35 mostra os espectros de absorção não normalizados das amostras de extensão antes e após distintas repetições de hipoclorito de sódio. Este agente também promove mudanças composicionais nas extensões, sendo evidenciadas pela redução na intensidade dos picos com absorção em 2917 cm^{-1} , 2957 cm^{-1} , 2873 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} (Figura 36), assim como dos picos localizados em 1579 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1462 cm^{-1} , 1436 cm^{-1} e 1425 cm^{-1} , com completa eliminação da banda 873 cm^{-1} (Figura 37). Tais achados são similares aos efeitos do ácido peracético nas extensões, em que foram observadas alterações nos mesmos picos de absorção. Contudo, ao contrário do que ocorreu com a aplicação de ácido peracético, é possível evidenciar que o número de aplicações de hipoclorito de sódio teve uma relação positiva com as alterações promovidas, ou seja, aumentando-se a frequência de exposição, maiores são as alterações observadas nas extensões.

O hipoclorito de sódio, composto de fórmula molecular NaClO , trata-se de uma substância instável que pode ser facilmente dissociada em ácido hipocloroso e hidróxido de sódio. Este último, devido ao seu elevado pH, é o responsável pela ação antimicrobiana por sua capacidade corrosiva, promovendo alteração da integridade da membrana citoplasmática, inibição enzimática irreversível, alterações biossintéticas e no metabolismo celular, assim como destruição de fosfolipídios dos microorganismos¹⁰⁰. O efeito

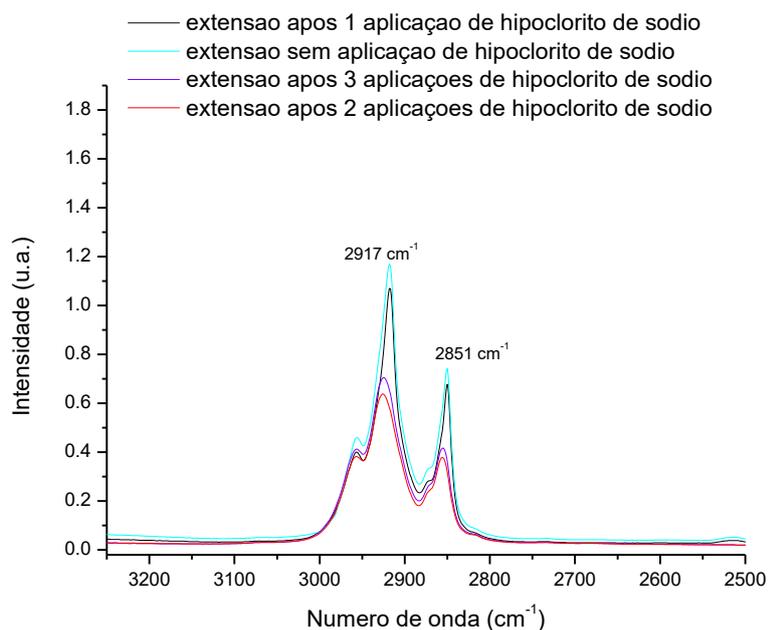
oxidante hipoclorito de sódio pode ser o responsável pela alteração das ligações químicas das extensões hospitalares observadas no presente estudo.

Figura 35 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros não normalizados.



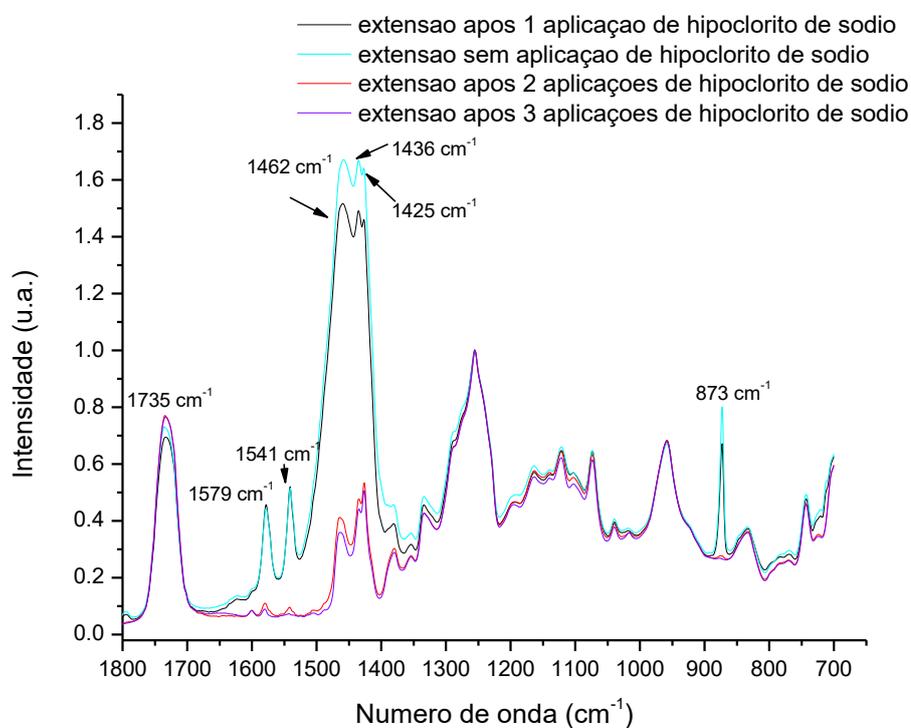
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 36 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 37 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Nas amostras de máscaras (Figura 38), o hipoclorito de sódio também promoveu redução na intensidade dos picos localizados em 2917 cm^{-1} (estiramento assimétrico do CH_2) e 2851 cm^{-1} (estiramento do CH), conforme pode ser observado na Figura 39, mas não alterou as intensidades dos picos 2957 cm^{-1} (estiramento assimétrico do CH_3) e 2873 cm^{-1} (estiramento simétrico do CH_3). Tais efeitos são similares aos promovidos pelo ácido peracético, também nas máscaras de nebulização. Desta forma, ambos os agentes parecem promover menores alterações nas máscaras do que nas extensões hospitalares, o que se deve, provavelmente, ao tipo diferente de plastificante presente nos dois materiais.

Ainda sobre os efeitos do hipoclorito de sódio nas máscaras de nebulização, considerando a região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} (Figura 40), foi possível notar diminuição nas intensidades dos picos de absorção em 1577 cm^{-1} (estiramento C-C aromático), 1541 cm^{-1} (estiramento C=C anel quinonoídico), 1461 cm^{-1} (CH_2 , CH_3 , C-C aromático – deformação angular simétrica, deformação angular assimétrica e estiramento, respectivamente), 1436 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl), 1425 cm^{-1} (deformação angular do CH_2Cl) e 873 cm^{-1} (C-H substituição aromática – deformação angular), de forma similar ao observado para as amostras de extensão. Da mesma forma, o número de aplicações interferiu na redução da intensidade dos picos, tendo uma relação positiva, o que difere do efeito produzido pelo ácido peracético neste mesmo material. Adicionalmente, da mesma forma que o observado para o ácido peracético, é possível notar um aumento na intensidade dos picos localizados em 1016 cm^{-1} (CH aromático), 1258 cm^{-1} (deformação simétrica do CH_3) e em 1720 cm^{-1} (C=O), os quais provavelmente estão relacionados ao plastificante, tendo em vista que não são picos comumente encontrados em amostras de PVC puro. Não houve o surgimento de novas bandas ou eliminação total de bandas, o que evidencia não haver adsorção do agente ao material, mas sim um efeito da oxidação sobre a composição do mesmo.

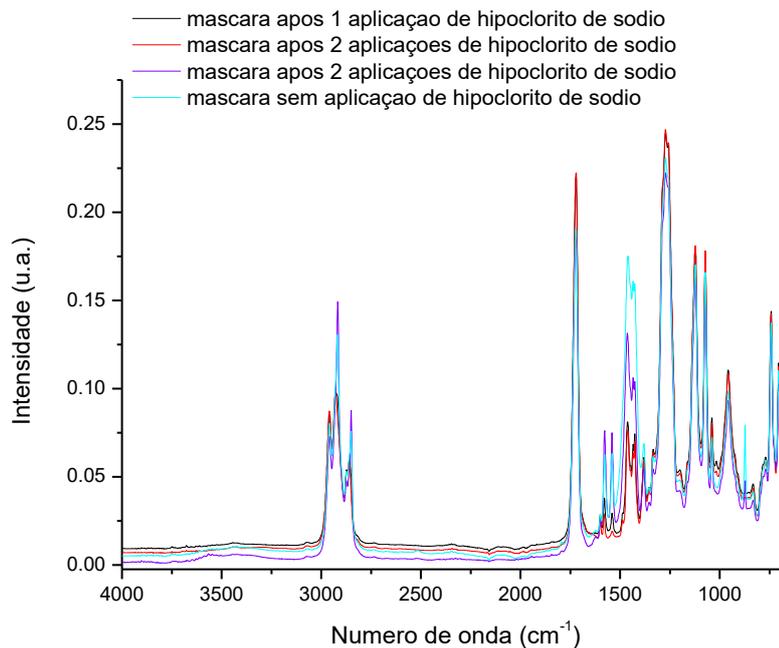
Um dos mecanismos de degradação do PVC envolve processos de oxidação da cadeia em hidroperóxidos, isso pode auxiliar na catálise de um processo chamado de dehidrocloração. A literatura¹⁰¹ mostra que o PVC, em

seu processo de degradação, pode sofrer dehidrocloração, o que é evidenciado pela presença da banda com pico em 741 cm^{-1} , a qual caracteriza uma reticulação em cadeia. No presente estudo, contudo, esta banda se apresenta em todas as amostras de máscara e extensão, independentemente do tipo de tratamento e da quantidade de aplicações dos mesmos, com maior intensidade nas amostras de máscara em relação à extensão. Neste estudo, observou-se que o ácido peracético diminui a intensidade deste pico tanto em máscaras quanto em extensões, de forma positiva com o número de aplicações; o hipoclorito de sódio, contudo, parece não interferir na intensidade deste pico nas duas amostras avaliadas. Desta forma, não podemos avaliar a degradação do material considerando apenas esta banda de absorção, mas podemos inferir que o ácido peracético tem maior efeito.

Além desta banda, o processo de degradação do PVC pode ser caracterizado pela presença de bandas com picos em 1729 cm^{-1} (C=O (ν)), $1581\text{-}1579\text{ cm}^{-1}$ (C=C- (δ)) e 1077 cm^{-1} (-C-O-C (δ)), as quais evidenciam a presença de grupos carbonila e polienos, os quais podem ser oriundos de quebras oxidativas da cadeia macromolecular¹⁰² e de perdas de HCl¹⁰³ do polímero. Nas amostras de extensão do presente estudo, esta banda teve seu pico deslocado para 1731 cm^{-1} , enquanto que nas amostras de máscara este pico foi observado em 1721 cm^{-1} , com maior intensidade nas máscaras. Ainda, foi possível notar que tanto o ácido peracético quanto o hipoclorito de sódio aumentaram a intensidade deste pico em ambos os materiais, sendo este acréscimo mais expressivo nas amostras de máscara. Assim, pode-se inferir que ambos os agentes podem exercer alguma degradação dos materiais, sendo esta mais intensa nas máscaras.

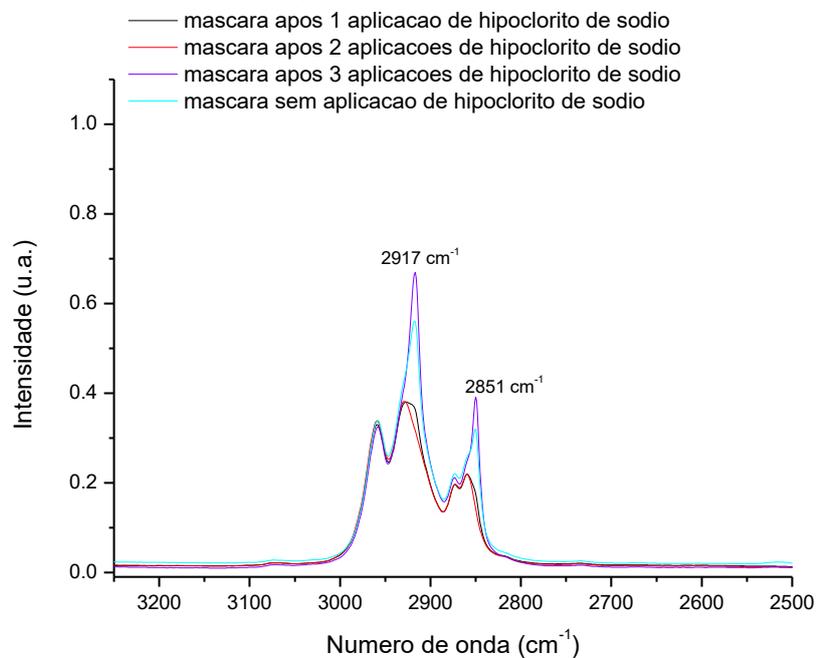
No presente estudo, contudo, o pico localizado em 1579 cm^{-1} também esteve presente em todas as amostras de máscaras e extensão, com maior intensidade nas amostras de extensão, tendo sua intensidade diminuída após os tratamentos com ácido peracético e hipoclorito de sódio. O pico de 1077 cm^{-1} (neste estudo deslocada para 1073 cm^{-1}) também se apresenta nos dois materiais, com maior intensidade nas máscaras. Pode-se observar que ambos os agentes (ácido peracético e hipoclorito de sódio) diminuíram discretamente a intensidade deste pico apenas nas amostras de extensão, não sendo observadas alterações nas amostras de máscara para os dois agentes.

Figura 38 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros não normalizados.



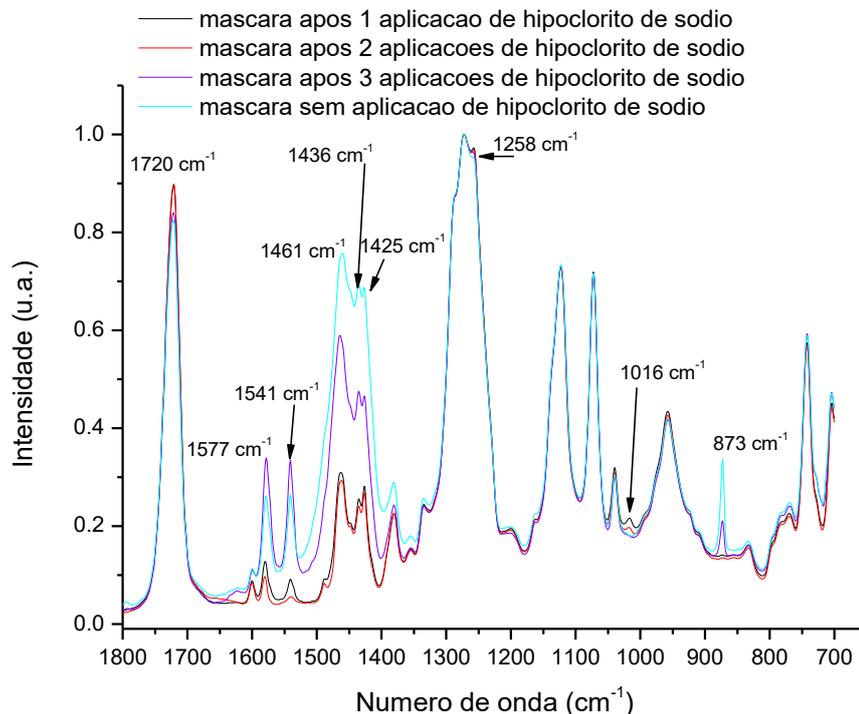
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 39 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 40 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com hipoclorito de sódio, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .



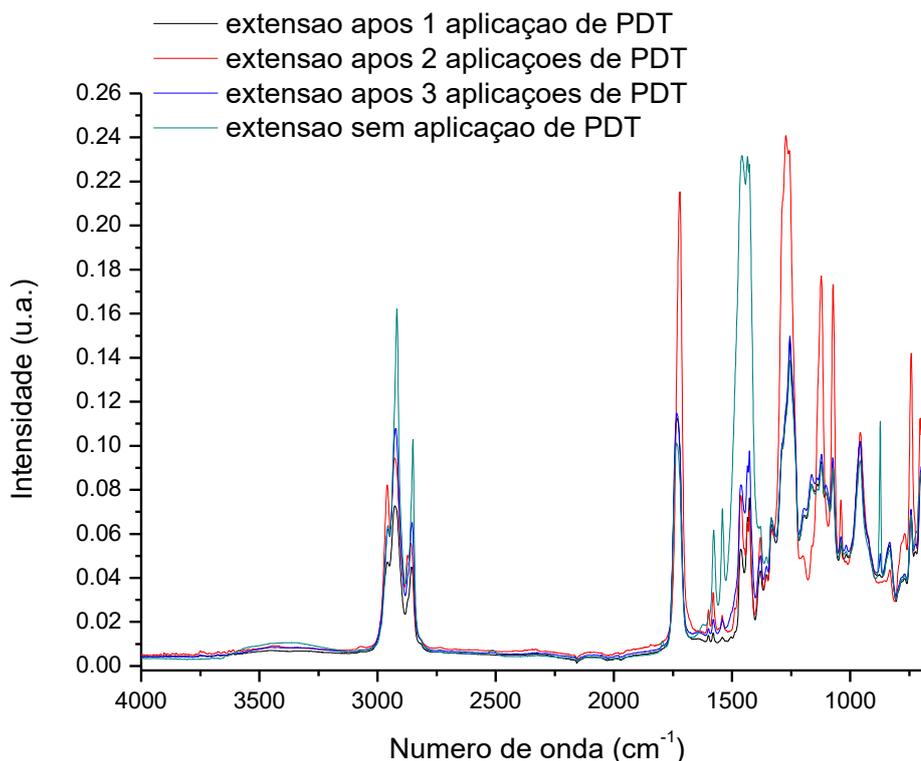
Fonte: Elaborado pela autora.

É possível sugerir, portanto, que o hipoclorito de sódio também interfere na composição de máscaras de nebulização, e que tal interferência pode ser maior neste material devido ao plastificante empregado. Ainda, a alteração composicional tem uma relação positiva com a quantidade de aplicações, ou seja, quanto maior a exposição ao agente, maiores são as alterações promovidas no material. Tais alterações podem implicar em degradação do material e interferir na durabilidade do mesmo, mas ensaios mecânicos são necessários para se confirmar tal hipótese.

6.1.3. Efeitos da terapia fotodinâmica

A terapia fotodinâmica com azul de metileno promoveu alterações composicionais nas máscaras e extensões hospitalares, também de forma dependente com o número de repetições. A Figura 41 ilustra os espectros médios de FTIR obtidos das amostras de extensão antes e após PDT, sendo possível observar alterações em todo o espectro.

Figura 41 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros não normalizados.



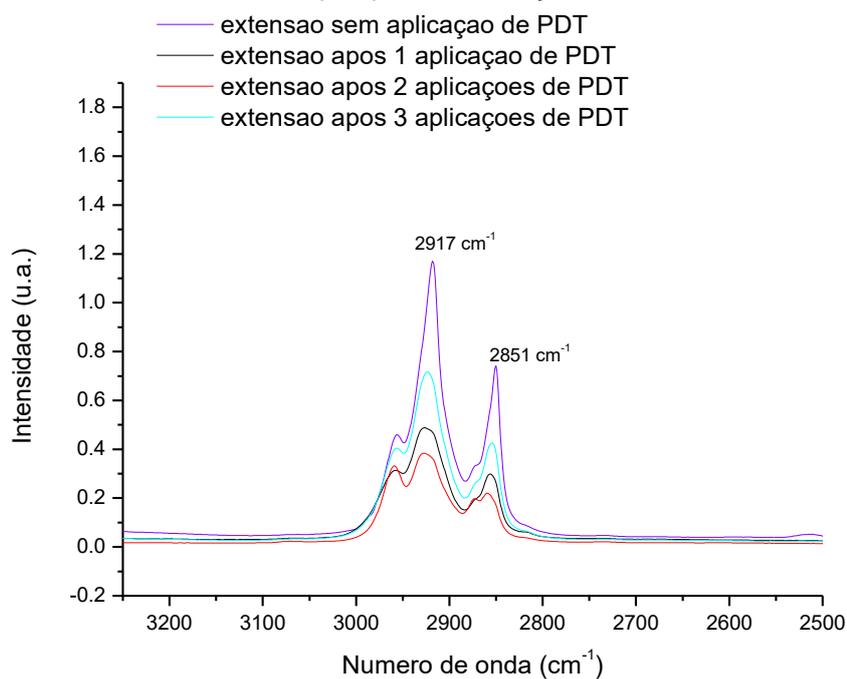
Fonte: Elaborado pela autora.

Na análise da Figura 42, é possível notar que a PDT diminuiu significativamente a intensidade dos picos com absorção em 2957 cm^{-1} , 2917 cm^{-1} , 2873 cm^{-1} e 2851 cm^{-1} , os quais correspondem aos estiramentos simétricos e assimétricos de hidrocarbonetos, da mesma maneira que o observado para o ácido peracético e o hipoclorito de sódio. Ainda, a ação da PDT é similar à observada para o hipoclorito de sódio, quando o número de aplicações interfere nos efeitos promovidos.

A terapia fotodinâmica possui ação antimicrobiana por meio da geração oxigênio singlete ou outras espécies reativas de oxigênio ($\text{O}_2\bullet$), como o ânion radical (OH^-) ou o radical hidroxila ($\text{OH}\bullet$). Desta maneira, pode ocasionar oxidação do PVC, da mesma forma que os demais agentes testados. Observando-se a Figura 43, a PDT promoveu diminuição da intensidade dos picos com absorção em 1579 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1462 cm^{-1} , 1436 cm^{-1} , 1425 cm^{-1} e 873 cm^{-1} . Adicionalmente, após duas aplicações, foi possível notar

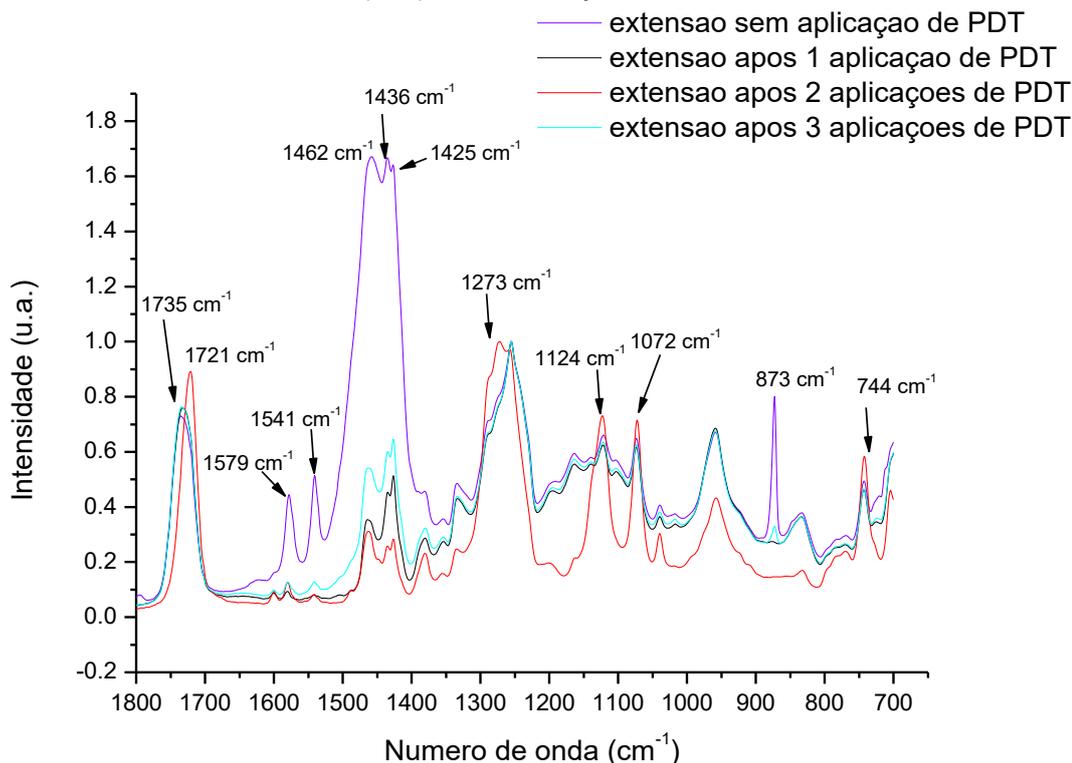
deslocamento do pico 1735 cm^{-1} para 1721 cm^{-1} , assim como aumento significativo da intensidade dos picos 1273 cm^{-1} e 744 cm^{-1} .

Figura 42 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre $3250 - 2500\text{ cm}^{-1}$. Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

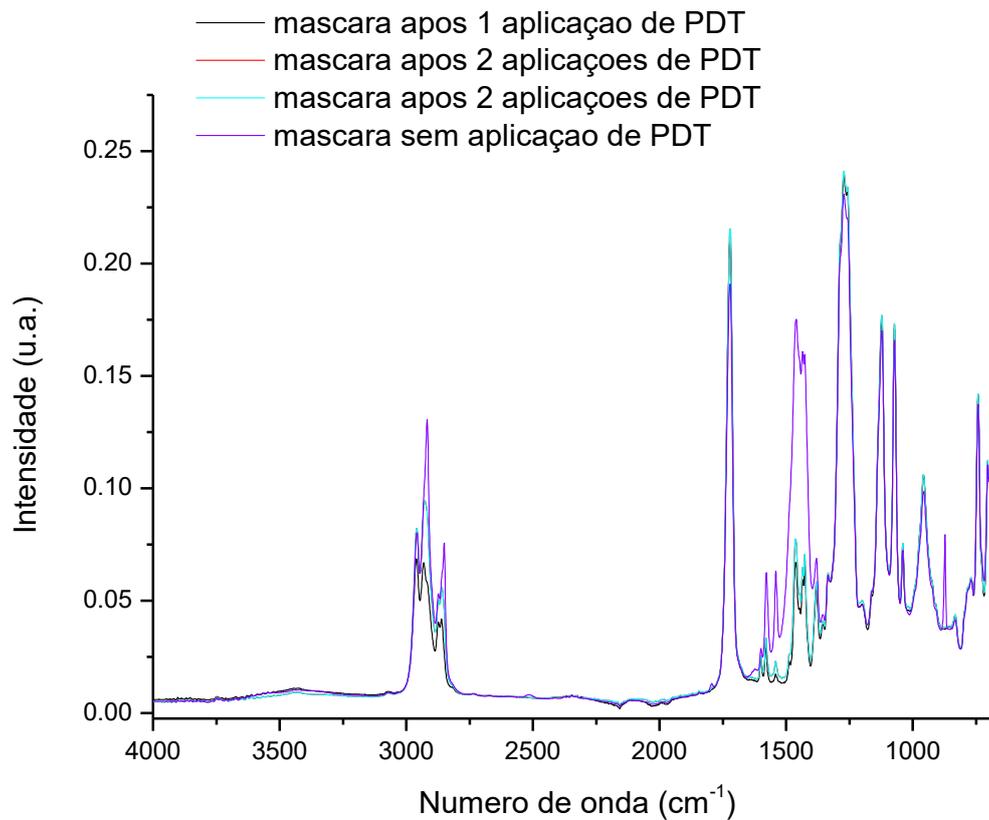
Figura 43 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de extensão antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1255 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

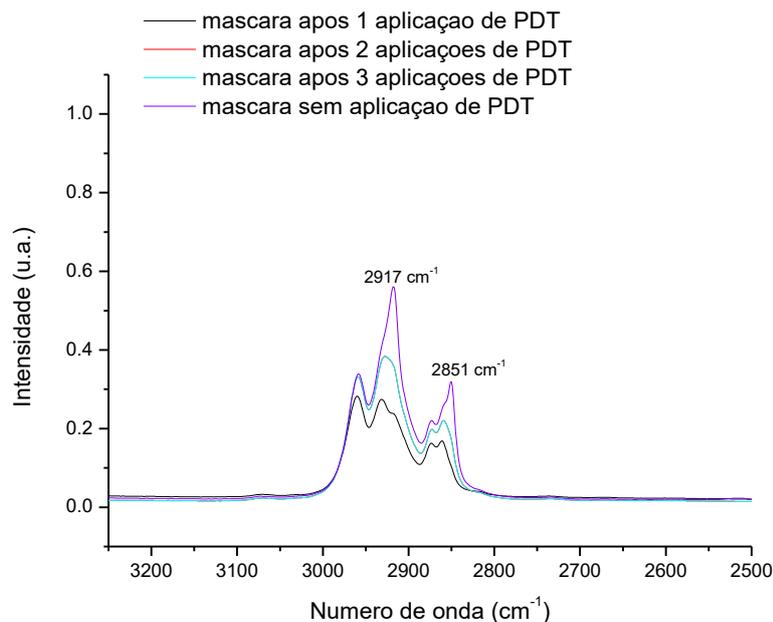
Para as máscaras, os efeitos da PDT também foram similares aos efeitos promovidos pelos demais agentes, conforme pode ser evidenciado pela Figura 44. Pelos espectros normalizados (Figuras 45 e 46), nota-se que significativa redução na intensidade dos picos com absorção em 2917 cm^{-1} , 2851 cm^{-1} , 1577 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} , 1461 cm^{-1} , 1436 cm^{-1} , 1425 cm^{-1} , 1258 cm^{-1} , e 873 cm^{-1} (com eliminação total deste último) e aumento na intensidade do pico com absorção em 1720 cm^{-1} de forma similar ao promovido pelos demais agentes. Tais alterações também parecem ter uma relação positiva com a quantidade de aplicações. Contudo, diferentemente do hipoclorito de sódio, a PDT parece não promover alterações no pico com absorção em 1016 cm^{-1} .

Figura 44 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre 4000 – 650 cm^{-1} . Espectros não normalizados.



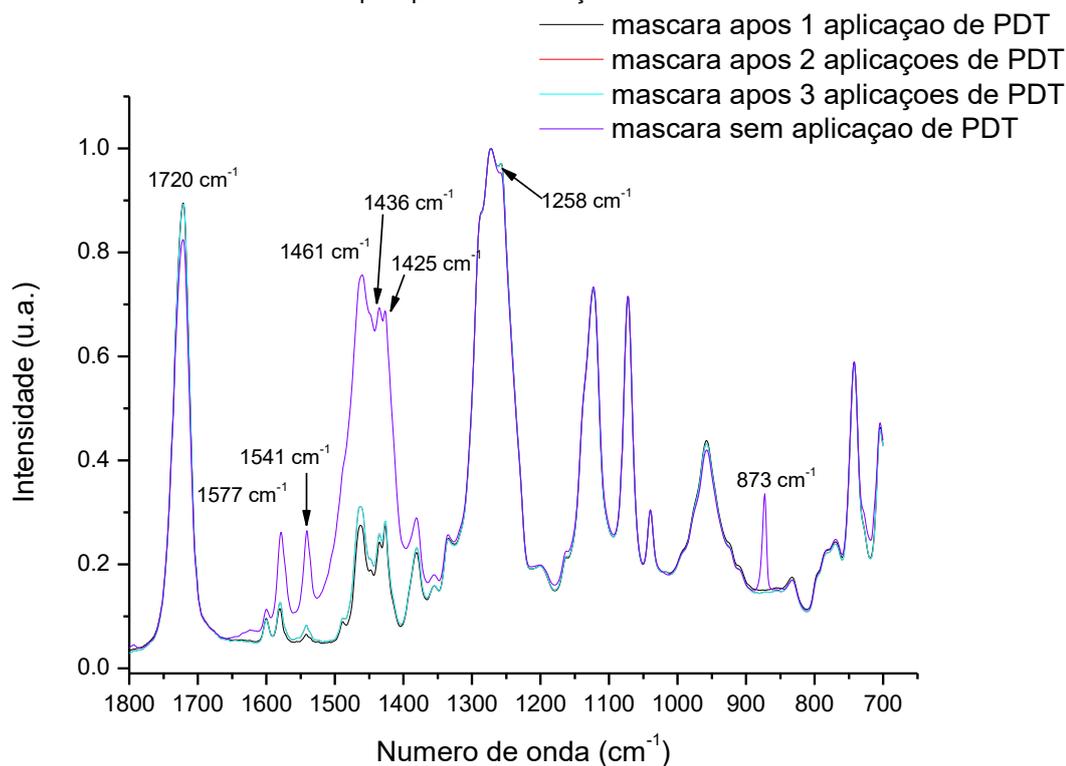
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 45 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre 3250 – 2500 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 46 - Espectro médio de absorção no infravermelho das amostras de máscara antes e após tratamento com terapia fotodinâmica, na região compreendida entre 1800 a 650 cm^{-1} . Espectros normalizados pelo pico com absorção em 1272 cm^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora.

Sabe-se que durante a realização da terapia fotodinâmica, ocorre a formação de diferentes espécies reativas de oxigênio, tais como oxigênio singleto e ânion superóxido, além de diferentes radicais livres⁶⁰. De acordo com os resultados observados neste estudo, sugere-se que estes produtos são os responsáveis por promover alterações nas máscaras e extensões hospitalares, provavelmente quebrando ligações químicas de nos grupos funcionais⁸⁰⁻⁸⁴. Sinais sugestivos de degradação do material também foram observados, por meio da alteração na intensidade dos picos em 1729 cm^{-1} , 1581-1579 cm^{-1} e 1077 cm^{-1} , conforme detalhado anteriormente. Contudo, vale ressaltar que tal degradação pode ter sido de pequena dimensão, provavelmente pelo pouco número de repetições, e que uma análise morfológica e mecânica dos materiais se faz necessária para se determinar a influência destas alterações composicionais na durabilidade dos materiais.

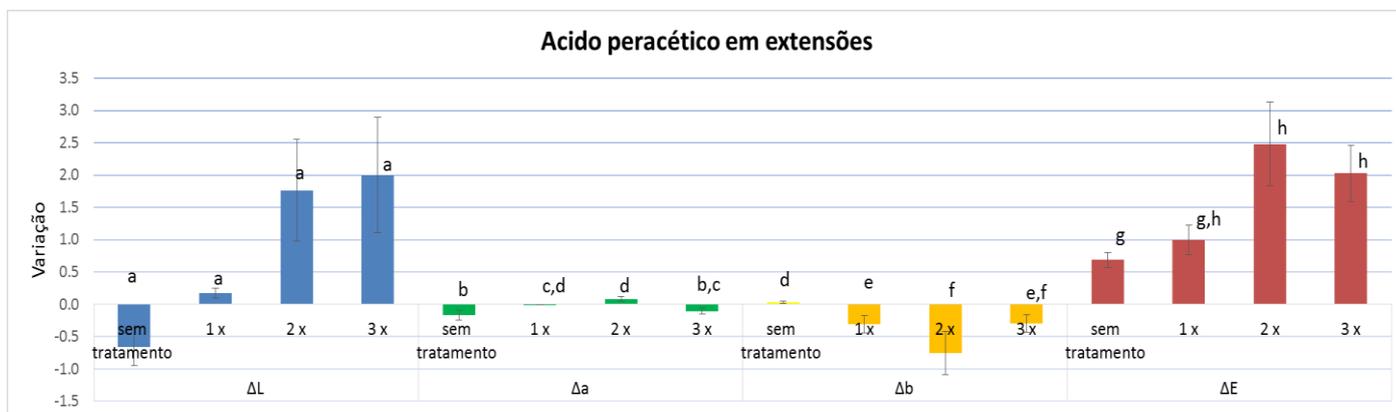
Assim, mesmo atuando por mecanismos diferentes, a PDT tem efeitos similares aos efeitos promovidos pelo hipoclorito de sódio e ácido peracético, o que pode comprometer a estrutura dos materiais testados em longo prazo.

Contudo, ressalta-se que a PDT apresenta vantagens em relação a estes agentes, tais como ausência de efeitos colaterais aos tecidos biológicos e ausência de odor³³⁻³⁵, o que a torna uma técnica atrativa para uso pela equipe hospitalar.

6.2 Avaliação das mudanças de cor

Tendo em vista que todos os agentes testados promoveram alterações composicionais nas máscaras e extensões, buscou-se avaliar se tais alterações podem ser perceptíveis visualmente, por meio de uma alteração de cor. Para estas análises, os efeitos dos tratamentos nos parâmetros ΔL (luminosidade, do branco ao preto), Δa (do vermelho (+a*) ao verde (-a*)), Δb (do amarelo (+b*) ao azul (-b*)) e ΔE (mudança total de cor, perceptível pelo olho humano quando for maior que 1) foram comparados às amostras sem tratamento e tratadas com diferentes repetições.

Figura 47 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas extensões antes e após tratamento com ácido peracético em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.

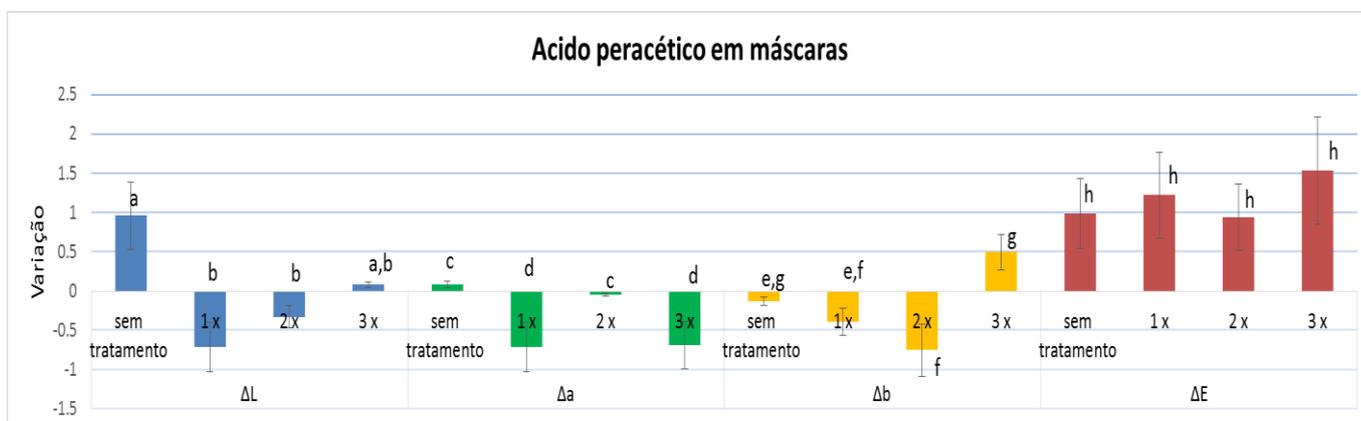


Fonte: Elaborado pela autora.

A Figura 47 mostra as variações nos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE das extensões promovidos pelo ácido peracético. Nota-se que o ácido peracético não promoveu alterações estatisticamente significativas na luminosidade (ΔL) das extensões; porém, alterou positivamente os parâmetros Δa (tornou mais avermelhado) e diminuiu o parâmetro Δb (tornou mais azulado). Desta forma, alterou a cor total percebida ($\Delta E > 1$ após 2 e 3 repetições). Já nas máscaras

(Figura 48), a aplicação de ácido peracético sob diferentes repetições promoveu alterações estatisticamente significantes nos parâmetros ΔL , Δa e Δb ; contudo, não alterou a cor total percebida deste material, sendo apenas observada uma tendência de aumento no parâmetro ΔE com o aumento do número de repetições. Este achado é esperado pois as extensões apresentam cor transparente e, por esta razão, as alterações na tonalidade deste material são mais perceptíveis do que as alterações nas máscaras, as quais apresentam cor verde. Ainda, a ausência de diferenças estatisticamente significantes pode ser decorrente da alta dispersão dos dados. As alterações de cor observadas nos materiais podem estar correlacionadas com as alterações composicionais evidenciadas nas análises de FTIR, tendo em vista que a degradação do PVC, oriundo da liberação de cloreto de hidrogênio (HCl) e formação de sequências poliênicas e ligações cruzadas na cadeia, pode resultar em uma coloração amarelada ou amarronzada¹⁰⁴, e que a adição de diferentes agentes tais como dispersantes ou antioxidantes podem interferir no processo de degradação do material. Considerando que, no presente estudo, foram avaliados dois materiais comerciais de composição não fornecida pelo fabricante, é possível sugerir que a presença destes agentes interferiu na ação do ácido peracético, do hipoclorito de sódio e da PDT de formas diferentes, conforme evidenciado nas análises de FTIR e colorimétricas do presente estudo.

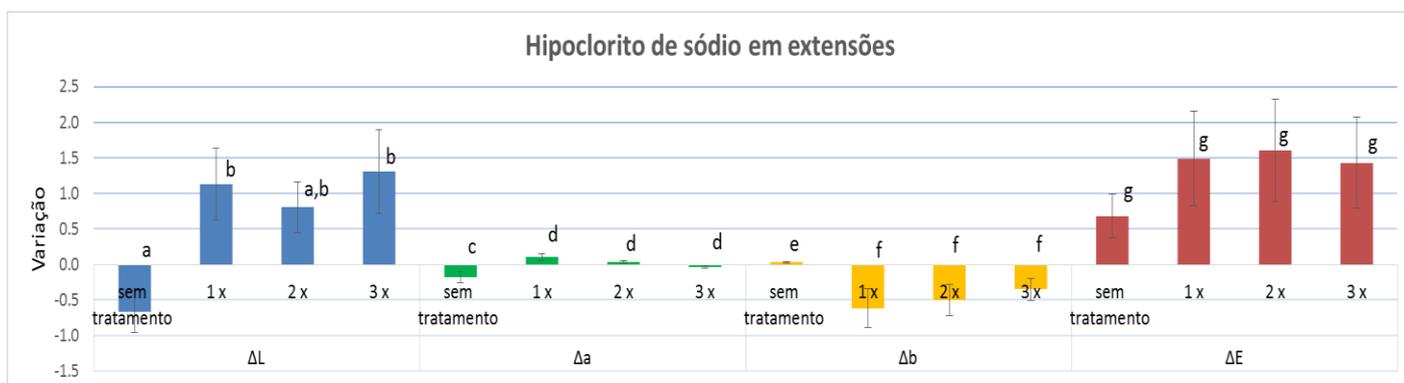
Figura 48 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas máscaras antes e após tratamento com ácido peracético em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

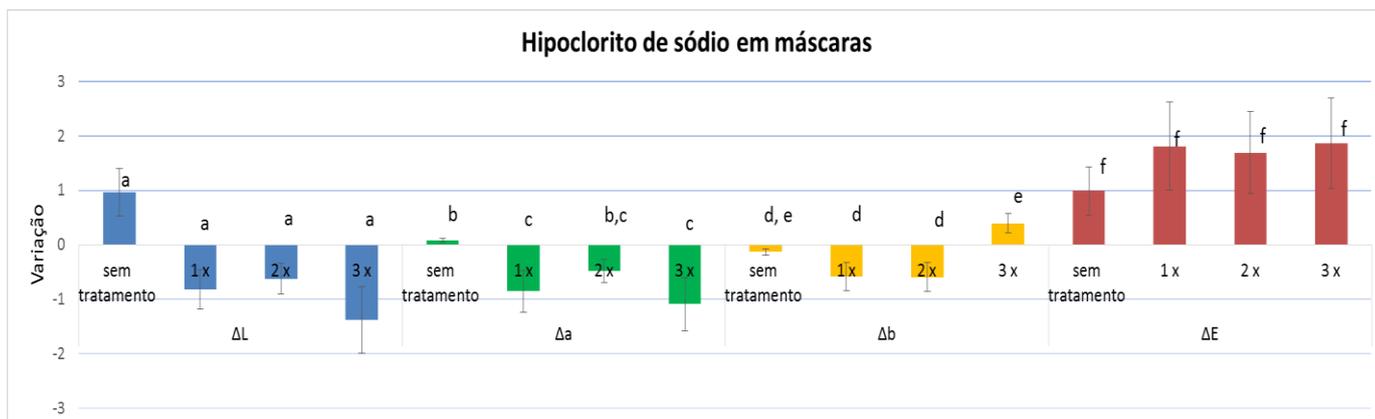
O tratamento das extensões com hipoclorito de sódio aumentou estatisticamente os parâmetros ΔL e o Δa , o que significa que aumentou a luminosidade e tornou as extensões mais esverdeadas; ainda, foi possível observar diminuição do parâmetro Δb (tornou mais azuladas); contudo, não promoveu alterações significativas na cor final percebida das extensões (ΔE), conforme pode ser visualizado na Figura 49. Por esta figura, também é possível notar uma tendência de aumento do parâmetro ΔE conforme aumenta o número de repetições, o que não foi evidenciado estatisticamente provavelmente devido à elevada dispersão dos dados. Nas máscaras, o tratamento com hipoclorito de sódio apenas diminuiu significativamente o Δa (tornou mais esverdeado), porém não promoveu alterações nos demais parâmetros, ou seja, o hipoclorito de sódio também não altera a cor das máscaras hospitalares, mesmo após 3 repetições de tratamentos (Figura 50). Estes resultados sugerem que os efeitos do hipoclorito de sódio foram menores que os efeitos do ácido peracético, mas que as alterações de cor detectadas podem ser causadas pelo processo de oxidação dos materiais avaliados.

Figura 49 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas extensões antes e após tratamento com hipoclorito de sódio em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

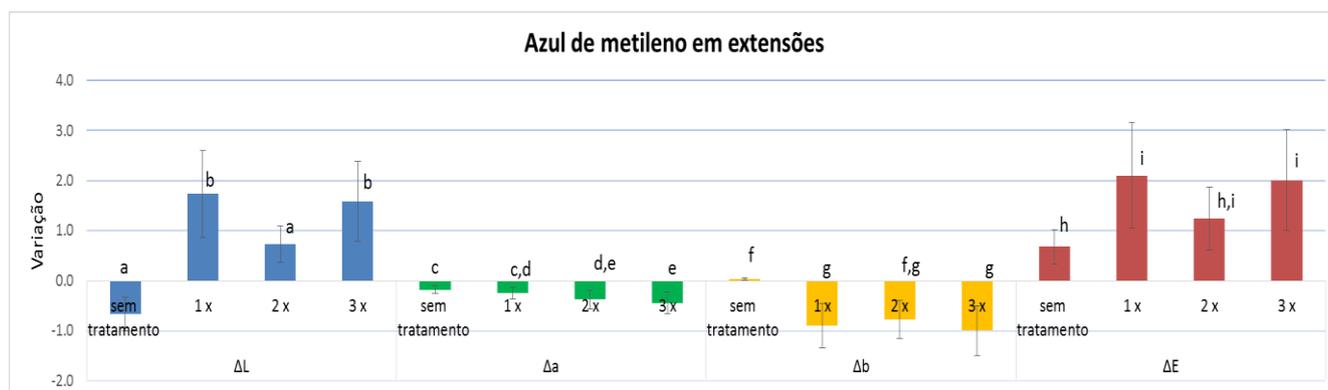
Figura 50 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas máscaras antes e após tratamento com hipoclorito de sódio em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

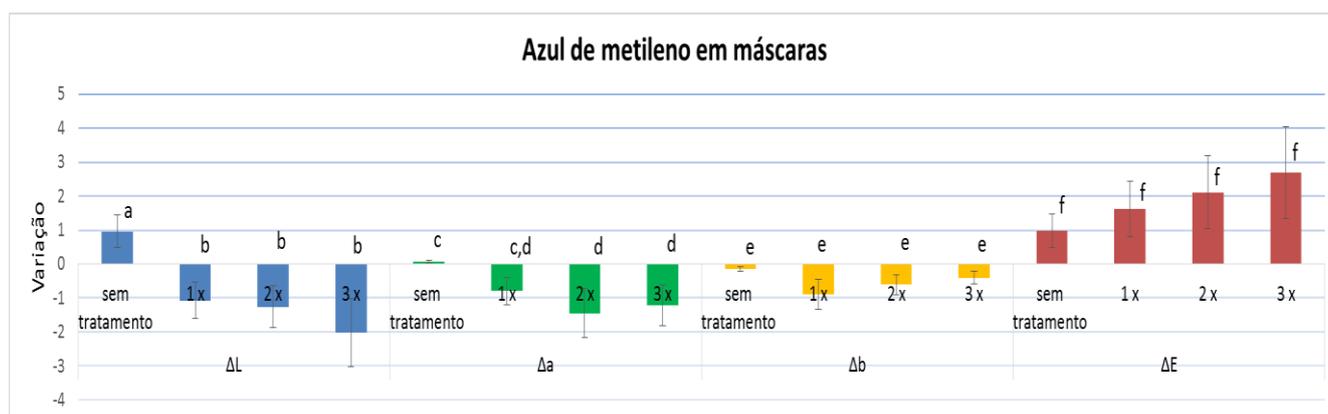
Nesta fase experimental, foi também avaliado o efeito do azul de metileno isoladamente na cor tanto das extensões quanto das máscaras hospitalares, cujos resultados são mostrados pelas Figuras 51 e 52. É possível notar que o azul de metileno isoladamente promove aumento do parâmetro ΔL (aumenta a luminosidade) e significativa diminuição dos parâmetros Δa e Δb (torna as extensões mais verdes e azuladas), o que acarreta em alteração significativa na cor percebida (ΔE acima de 1). Já nas máscaras, o azul de metileno isoladamente promoveu significativa diminuição da luminosidade, do Δa e Δb (torna as extensões mais verdes e azuladas); porém, embora tenha havido uma tendência de alteração da cor total das amostras, esta tendência não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). O azul de metileno é um corante com estrutura $C_{16}H_{18}ClN_3S$, a qual é responsável pela coloração azul escura³⁶⁻⁴¹. Pelos resultados deste trabalho, as poucas repetições do tratamento com este corante já refletem em alterações na cor dos materiais de PVC, de forma mais significativas que as promovidas pelo ácido peracético e hipoclorito de sódio, sugerindo que o corante pode ficar adsorvido superficialmente aos materiais testados mesmo após as lavagens e mesmo sem ocorrer o processo de oxidação, tendo em vista que não foi efetuada, nesta fase, a ativação com a irradiação laser.

Figura 51 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas extensões antes e após tratamento com azul de metileno em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 52 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas máscaras antes e após tratamento com azul de metileno em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.

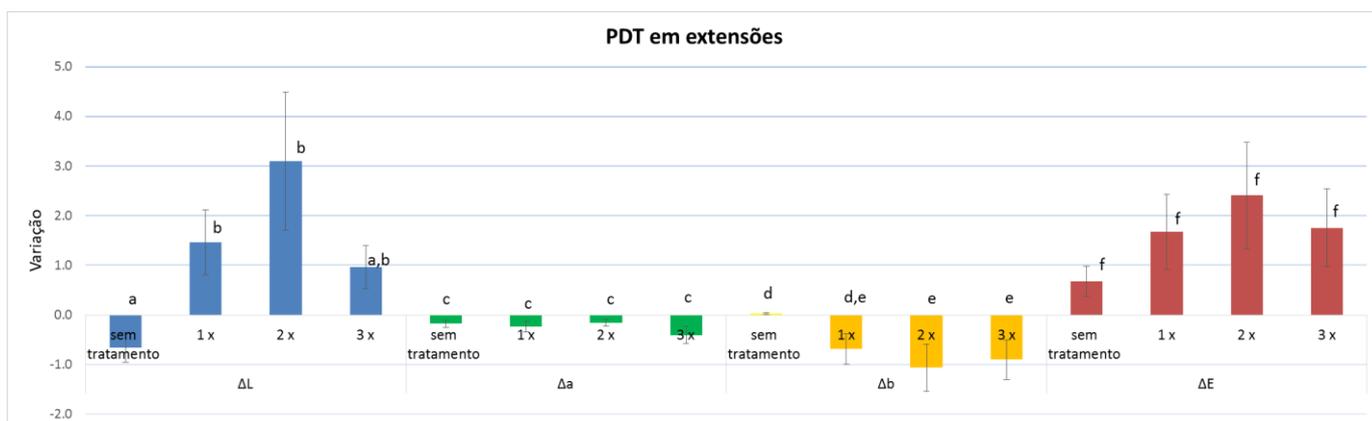


Fonte: Elaborado pela autora.

Por último, foram testados os efeitos da terapia fotodinâmica, ou seja, corante ativado pela luz laser, nas alterações ópticas dos materiais de PVC. Pela análise da Figura 53, é possível observar que, assim como o azul de metileno isoladamente, a PDT também aumenta a luminosidade e torna as extensões mais azuladas (aumenta significativamente o ΔL e diminui significativamente o Δb); porém, não resultou em alteração significativa da cor percebida embora tenha havido uma tendência de alteração de acordo com o número de repetições, provavelmente devido à alta dispersão dos dados experimentais. Nas máscaras (Figura 54), a PDT apenas promoveu diminuição estatisticamente significativa do parâmetro Δa (tornou mais esverdeada), mas não alterou significativamente qualquer outro parâmetro de cor. Desta forma,

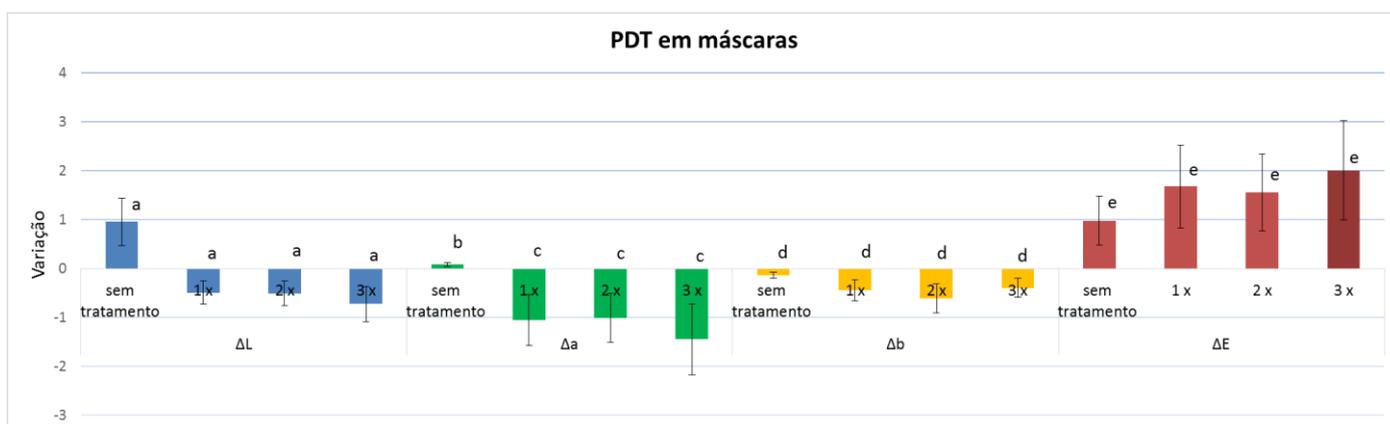
observa-se que a terapia fotodinâmica tem efeito mais pronunciado nas extensões (como esperado, tendo em vista que as extensões têm originalmente cor transparente), mas não alteram a cor das máscaras em até 3 repetições de tratamentos. Ainda, foi possível evidenciar que as alterações de cor, no caso da PDT, são originadas da adsorção do corante, e não da degradação do material, como detectado para os demais agentes testados.

Figura 53 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas extensões antes e após tratamento com terapia fotodinâmica em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 54 – Variação dos parâmetros ΔL , Δa , Δb e ΔE nas máscaras antes e após tratamento com terapia fotodinâmica em diferentes repetições. As barras indicam erro padrão. Letras distintas evidenciam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% de acordo com o teste de Student-Newmann-Keuls.



Fonte: Elaborado pela autora.

Desta forma, considerando que a PDT altera a composição dos materiais testados de forma similar ao ácido peracético e hipoclorito de sódio, assim como os benefícios da terapia fotodinâmica na redução microbiana

relatados na literatura nos parâmetros de irradiação estudados neste estudo^{15-4,59-72}, é possível inferir que a terapia fotodinâmica pode ser utilizada como uma alternativa para descontaminação de máscaras de nebulização e extensões hospitalares. Contudo, futuros ensaios microbiológicos, assim como ensaios de resistência mecânica e morfológicos, mostram-se imprescindíveis para que isto seja colocado em futuro uso clínico de forma segura, evidenciando-se os efeitos também na durabilidade dos materiais.

7. CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que o ácido peracético a 0,2%, o hipoclorito de sódio a 1% e a terapia fotodinâmica com azul de metileno (PDT) alteram a composição química tanto de máscaras quanto de extensões hospitalares, e que tais alterações têm relação positiva com o número de tratamentos realizados. Estas alterações composicionais podem estar relacionadas com as alterações de cor promovidas em ambos os materiais por todos os agentes testados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Segurança do paciente em serviços de saúde: limpeza e desinfecção de superfícies/Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** – Brasília: Anvisa, 2010. 116 p.
2. REYCHELER G. AARAB K. VAN OSSEL C. GIGI J. SIMON A. LEAL T. LEBECQUE P. ***In vitro* evaluation of efficacy of 5 methods of disinfection on mouthpieces and facemasks contaminated by strains of cystic fibrosis patients.** Journal of Cystic Fibrosis, Belgic, v. 4, n.3, p. 183–187, feb. 2005.
3. BRZEZINSKI LXC. RIEDI CA. KUSSEK P, SOUZA HH, ROSÁRIO N. **Nebulizadores: fonte de contaminação bacteriana em pacientes com fibrose cística?** Jornal Brasileiro de Pneumologia, Curitiba, v. 37, n. 3, p. 341–347, mai, 2011.
4. SPAULDING EH. **Chemical disinfection of medical and surgical materials.** In: Lawrence C, Block SS. Disinfection, sterilization, and preservation. 2. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1968. p. 517-31.
5. ANDERS OS. TIPPLE AFV. PIMENTA FC. **Kits para aerossol em um serviço de saúde: uma análise microbiológica após reprocessamento.** Revista escola enfermagem USP, São Paulo , v. 42, n. 2, p. 276-281, june, 2008.
6. GRAZIANO KU. SILVA A. BIANCHI ERF. **Limpeza, desinfecção, esterilização de artigos e anti-sepsia.** In: Fernandes AT. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. 1 ed. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 266-304.
7. GRAZIANO KU. **Processo de limpeza, desinfecção e esterilização de artigos odonto-médico hospitalares e cuidados com o ambiente em centro cirúrgico.** In: Lacerda RA, coordenadora. Controle de infecção em centro cirúrgico. Fatos, mitos e controvérsias. São Paulo: Atheneu; 2003.
8. SOBECC. Associação Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização.

- Diretrizes de Práticas em Enfermagem Cirúrgica e Processamento de Produtos para a Saúde – SOBECC.** 7 ed. São Paulo: SOBECC, 2017.
9. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 15, de 15 de março de 2012.** Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
 10. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o regulamento técnico para produto com ação antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semicríticos. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 35, de 16 de agosto de 2010.** Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
 11. CDC. Centers for Diseases Control and Prevention. **Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008.** Atlanta, EUA: Centers for Diseases Control and Prevention; 2008.
 12. GRAZIANO KU. SILVA A. PSALTIKIDIS EM. **Enfermagem em Centro de Material e Esterilização.** Barueri, São Paulo: Manole, 2011. 417 p.
 13. MULLER S, GRUBER AC, HOEFEL HHK, BARROS SGS. **Manometria esofágica: limpeza e desinfecção do equipamento com glutaraldeído.** Arq Gastroenterol, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 276-80, dec 2001.
 14. BALTHAZAR MB, SANTOS BM. **A desinfecção de nebulizadores em uma unidade básica de saúde de Ribeirão Preto.** Rev. esc. enferm. USP, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 23-35, apr. 1997.
 15. NUNEZ SC. AGUINALDO SG. RIBEIRO MR. **Terapia fotodinâmica antimicrobiana: aplicação clínica, conceitos e perspectivas em odontologia.** 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
 16. HIRAO A. SATO S. TERAOKAWA M. SAITOH D. SHINOMIYA N. ASHIDA H. OBARA M. **In vivo photodynamic inactivation of Pseudomonas aeruginosa in burned skin in rats.** In: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE. San Francisco, CA, United States, 2010. Optical Methods for Tumor Treatment and

Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy
XIX . v. 7551.

17. HASHIMOTO MCE, PRATES RA, KATO IT, NUNEZ SC, COURROL LC, RIBEIRO MS. **Antimicrobial Photodynamic Therapy on Drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*-induced Infection. An In Vivo Study.** Photochem Photobiol. v. 88, n. 3, p. 590- 595, may-jun 2012.
18. SILVA, CSL, PEREIRA AHC, FREITAS MAA, SIQUEIRA BA, FONTANA LC, FERREIRA-STRIXINO J. **Terapia fotodinâmica aplicada na inativação de metileno.** In: XX Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VI Encontro de Iniciação à Docência – Universidade do Vale do Paraíba. São Jose dos Campos, 2016.
19. PEREIRA AHC, PINTO JG, FREITAS MAA, FONTANA LC, PACHECHO SC, FERREIRA-STRIXINO J. **Methylene blue internalization and photodynamic action against clinical and ATCC *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, , p. 43-50, jun 2018
20. SILVA ACP, FREITAS CF, TESSARO AL, CAETANO W, SANTIN SMO, HIOKA N, PAILOTO GF. **Atividade Fotodinâmica e Conceitos: Um novo experimento demonstrativo.** *Quím. Nova.* São Paulo, v. 41, n. 6, p. 706-712, jun 2018.
21. GUIRADO GMP, FEITOSA LS, KOZUSNY-ANDREANI DI, NAVARRO RS. **Analysis of laser therapy effects in *Sporothrix schenckii* inactivation in vivo.** *Res. Biomed. Eng. Rio de Janeiro*, v. 34, n. 2, p. 93-101, jun 2018.
22. SILVA AV, LÓPEZ-SÁNCHEZ A, JUNQUEIRA HC, RIVAS L, BAPTISTA MS, ORELLANA G. **Riboflavin derivatives for enhanced photodynamic activity against *Leishmania* parasites.** *Tetrahedron*, v. 71, n. 3, p. 457–46221, jan, 2015.
23. DIMMER J, CABRAL FV, SABINO CP, SILVA CR, NÚÑEZ-MONTOYA SC, CABRERA JL, RIBEIRO MS. **Natural anthraquinones as novel photosensitizers for antiparasitic**

- photodynamic inactivation.** Phytomedicine, v. 61, p. 152894, mar, 2019.
24. BAGNATO VS, KURACHI C, FERREIRA J, MARCASSA LG, SHIBATA CH, ALLISON RR. **PDT experience in Brazil: A regional profile.** Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, v. 2, n. 2, p. 107-118, jun, 2005.
25. TRIESSCHEIJN M, BAAS P, SCHELLENS JHM, STWART FA. **Photodynamic Therapy in Oncology.** The Oncologist, Netherlands, v. 11, n. 9, p. 1034-1044, augo 2006.
26. CARNEIRO RC, MACEDO SEM, LIMA PP, MATAYOSHI S. **Terapia fotodinâmica em carcinoma basocelular periocular: relato de caso.** Rev.bras.ofthalmol. Rio de Janeiro, v. 71, n. 6, p.394-396, dec, 2012.
27. KASHIWABUCHI RT, KHAN Y, CARVALHO FR, HIRAI F, CAMPOS MS, McDONNELL PJ. **Antimicrobial susceptibility of photodynamic therapy (UVA/riboflavin) against Staphylococcus aureus.** Arq. Bras. Oftalmol, São Paulo, v. 75, n. 6, p. 423-426, dec. 2012.
28. EDUARDO CP, BELLO-SILVA MS, RAMALHO KM, LEE EMR, ARANHA ACC. **Photodynamic therapy as a complementary benefit in the dental clinic.** Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent. São Paulo, v. 69, n. 3, p. 226-235, set. 2015.
29. NAGATA JY, HIOKA N, KIMURA E, BATISTELA VR, TERADA RSS, GRACIANO AX, BAESSO ML, HAYACIBARA MF. **Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: Evaluation of the photosensitizers used and light source properties.** Photodiagn. Photodyn. Ther , v. 9, n. 2, p. 122-131, jun. 2012.
30. YAMADA AMJr, HAYEK RRA, RIBEIRO MS. **O Emprego da Terapia Fotodinâmica (PDT) na Redução Bacteriana em Periodontia e Implantodontia .**Photodynamic Therapy in Dentistry, v.52, n. 3, p. 207-210, sep. 2004.
31. ISSA, MCA, MANELA-AZULAY M. **Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation.** An. Bras. Dermatol. Rio de Janeiro, v. 85, n. 4, p. 501-511, Aug. 2010.

32. DE MELO WC, AVCI P, DE OLIVEIRA MN, GUPTA A, VECCHIO D, SADASIVAM M, RAKKIYAPPAN C, HUANG YY, YIN R, PERUSSI LR, TEGO GP, PERUSSI JR, DAI T, HAMBLIN MR. **Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection.** *Expert Rev Anti Infect Ther.* v. 11, n. 7, p. 669–693, jul. 2013.
33. JORI G, FABRIS C, SONCIN M, FERRO S, COPPELLOTTI O, DEI D, FANTETTI L, CHITI G, RONCUCCI G. **Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: Basic principles and perspective applications.** *Lasers Surg Med.*v. 38, n. 5, p. 468–481, jun 2006.
34. PERUSSI JR. **Inativação fotodinâmica de microrganismos.** *Quim. Nova, São Paulo,* v. 30, n. 4, p. 988-994, mai 2007.
35. TARDIO JP, DEL GIGLIO A, OLIVEIRA CS, GABRIELLI DS, JUNQUEIRA HC, TADA DB, SEVERINO D, DE FATIMA RT, BAPTISTA MS. **Methylene Blue in Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications.** *Photodyagnosis and Photody Ther,* v. 2, n. 3, p.175-191, SEP 2005.
36. KESSEL D. **Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease.** Vol 1. Boston: CRC, 1990. 352 p.
37. USACHEVA MN, TEICHERT MC, BIEL MA. **Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against Gram-positive and Gram-negative microorganisms.** *Lasers Surg Med.* v. 29, n. 2, p. 165-173, aug 2001.
38. KOMERIK N., NAKANISHI H, MACROBERT AJ, HENDERSON B, SPEIGHT P, WILSON M. **In Vivo Killing of Porphyromonas gingivalis by Toluidine Blue-Mediated Photosensitization in an Animal Model.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* v. 47, n. 3, p. 932–940, mar 2003.
39. TARDIVO JP, DEL GIGLIO A, PASCHOAL LHC, ITO AS, BAPTISTA MS. **Treatment of melanoma lesions using methylene blue and RL50 light source.** *Photodiagnosis and Photody Ther,* v. 1, n. 4, p. 345–346, dec, 2004.

40. LEE YS, WURSTER RD. **Methylene blue induces cytotoxicity in human brain tumor cells.** *Cancer Letters*, v. 88, n. 2, p. 141–145, jan, 1995.
41. TRINDADE G, FARIAS SL, RUMJANEK V, CAPELLA MA. **Methylene blue reverts multidrug resistance: sensitivity of multidrug resistant cells to this dye and its photodynamic action.** *Cancer Letters*, v. 151, n. 2, p. 161–167, apri, 2000.
42. POLETTO AP, HOSS J, WERMUTH SI, PORTELLA F, ARTHUR R, POZONI D, SAMUEL SM, PURICELLI E. **Efeito do ácido peracético sobre a adesão microbiana e as propriedades de tubos endotraqueais.** *Revista Da Faculdade De Odontologia*, v. 21, n. 2, p.21, dez 2016.
43. HUTCHINSON GR, PARKER S, PRYOR JA, DUNCAN-SKINGLE F, HOFFMAN PN, HODSON ME, KAUFMANN ME E PITT TL. **Home-use nebulizers: a potential primary source of Burkholderia cepacia and other colistin-resistant, gram-negative bacteria in patients with cystic fibrosis.** *J Clin Microbiol.* V. 34, n. 3, p. 584-7, mar 1996.
44. BORSJE P, DE JONGSTE JC, MOUTON JW, TIDDENS HA. **Aerosol therapy in cysticfibrosis: a surveyof 54 CF centers.** *Pediatr Pulmonol*, v. 30, n. 5, p. 368-76, oct 2000.
45. KLEVENS, RM, EDWARDS JR, RICHARDS CLJr, HORAN TC, GAYNES RP, POLLOCK DA, CARDO DM. **Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002.** *Public Health Reports*, v. 122, n. 2, p. 160-166, apr 2007.
46. AGUIAR R, LOPES A, ORNELAS C, FERREIRA R, CAIADO J, MENDES A, PEREIRA-BARBOSA M. **Terapêutica inalatória: Técnicas de inalação e dispositivos inalatórios.** *Ver Port Imunoalergologia*, Lisboa, v. 25, n. 1, p. 9-26, mar. 2017 .
47. FAVERO MS, BOND WW. **Chemical disinfection of medical and surgical materials.** In: Block SS. *Disinfection, sterilization, and preservation*, 5.ed. Philadelphia, EUA: Lippincott Williams&Wikins, 2001. 1481 p.

48. INSTITUTO BRASILEIRO DO PVC. **Área Médica**. São Paulo. Disponível em: <http://pvc.org.br/aplicacoes/area-medical>. Acesso em 26 de maio 2019.
49. NUNES LR, RODOLFO AJr, ORMANJI W. Tecnologia do PVC. São Paulo: ProEditores / Braskem, 2006. 448 p.
50. PIATTI TM. **Plásticos: características, usos, produção e impactos ambientais**. (Conversando sobre ciências em Alagoas). Maceió: EDUFAL, 2005. 51 p.
51. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Environmental Health criteri 131 Diethyl-hexyl phthalate**. Genva. Disponível em: <https://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad52.pdf>. Acesso em 26 de maio 2019.
52. BRASKEM. **Efeitos dos plastificantes na dureza dos compostos de PVC. Boletim Técnico n 01 PVC. Revisão 2 – jul/02**. Disponível em: https://www.braskem.com.br/Portal/Principal/Arquivos/html/boletm_tecnico/Plastificantes.pdf Acesso em 26 de maio 2019.
53. BASSO M, GIUNTA APN. **Limpeza e desinfecção de artigos médico-hospitalares**. In: Basso M, Abreu ES. Limpeza, desinfecção de artigos e áreas hospitalares e antisepsia, 2, ed. São Paulo: Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH); 2004.
54. DYCHADALA GR. **Chlorine and chlorine compounds**. In: Block SS. Disinfection, sterilization and preservation, 5. Ed. Philadelphia, EUA: Lippincott Williams & Williams; 2001. 135-57p.
55. PSALTIKIDIS EM, QUELHAS MCF. **Desinfecção de artigos**. In: Padoveze MC, Graziano KU. Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde. Associação Paulista de Epidemiologia e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH), 2010. 265-302 p.
56. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Determina a todos os fornecedores de produtos médicos, o cumprimento dos requisitos estabelecidos pelas “boas práticas de fabricação de produtos médicos”. **Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 59, de 27 de junho de 2000**. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.

57. RUTALA WA, WEBER DJ. **Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities.** Atlanta, EUA: Centers for Diseases Control and Prevention; 2008.
58. BORE E, LANGSRUD S. **Characterization of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid.** J Appl Microbiol. v.98, n. 1, p. 96-105, oct 2004.
59. AGOSTINIS P, BERG K, CENGEL KA, FOSTER TH, GIROTTI AW, GOLLNICK SO, HAHN SM, HAMBLIN MR, JUZENIENE A, KESSEL D, KORBELIK M, MOAN J, MROZ P, NOWIS D, PIETTE J, WILSON BC, GOLAB J. **Photodynamic therapy of cancer: an update.** CA Cancer J Clin, v. 61, n. 4, p. 250-281, aug 2011.
60. ABRAHAMSE H, HAMBLIN MR. **New photosensitizers for photodynamic therapy.** Biochemical Journal, v. 473, n. 4, p. 347–364, feb 2016.
61. FOOTE CS. **Mechanisms of photosensitized oxidation. There are several different types of photosensitized oxidation which may be important in biological systems.** Science, v. 162, n. 3857, p. 963–970, nov 1968.
62. LAMBRECHTS SAG, AALDERS MCG, J. MARLE JV. **Mechanistic study of the photodynamic inactivation of *Candida albicans* by a cationic porphyrin.** Antimicrob. Agents Chemother, v. 49, n. 5, p. 2026-2034, may 2005.
63. DEMIDOVA TN, HAMBLIN MR. **Effect of Cell-Photosensitizer Binding and Cell Density on Microbial Photoinactivation.** Antimicrob. Agents Chemother, v. 49, n. 6, p. 2329-2335, jun 2005.
64. MACHADO AEH. **Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas.** Quim Nova, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-243, jul, 2000.
65. RUI Y, HAMBLIN MR. **Antimicrobial Photosensitizers: Drug Discovery Under the Spotlight.** Current Medicinal Chemistry, v. 22, n. 18, p. 2159-2185. 2015.

66. MEISEL P, KOCHER T. **Photodynamic therapy for periodontal diseases: State of the art.** Photochem. Photobiol B, v.79, n. 2, p. 159-170, may 2005.
67. ACKROYD R, KELTY C, BROWN N, REED M. **The history of photodetection and photodynamic therapy.** Photochem Photobiol, v. 74, n. 5, p. 656-669, nov 2001.
68. BAPTISTA A, KATO IT, PRATES RA, SUZUKI LC, RAELE MP, FREITAS AZ, RIBEIRO MS. **Antimicrobial photodynamic therapy as a strategy to arrest enamel mineralization: a short-term study on incipient caries in a rat model.** Photochemistry and Photobiology, v. 88, n. 3, p. 584–589, jun 2012.
69. ALMEIDA JM, GARCIA VG, THEODORO LH, BOSCO AF, NAGATA MJH, MACARINI VC. **Terapia fotodinâmica: uma opção na terapia periodontal.** Arquivos em Odontologia, Belo Horizonte, v. 42, n. 3, p. 161-256. Set 2006.
70. BAGNATO VS. **Novas técnicas ópticas para as áreas da saúde.** São Paulo: Livraria da Física, 2008.
71. LEAL CRL, ALVARENGA LH, OLIVEIRA-SILVA T, KATO IT, GODOY-MIRANDA B, BUSSADORI SK, RIBEIRO MS, PRATES RA. **Antimicrobial photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* is altered by glucose in the presence of methylene blue and red LED.** Photodiagnosis and Photodyn Ther, v. 19, p. 1–4, sep 2019.
72. TEGOS GP, HAMBLIN MR. **Phenothiazinium antimicrobial photosensitizers are substrates of bacterial multidrug resistance pumps.** Antimicrobial Agents Chemoth, v. 50, n. 1, p. 196–203, jan 2006.
73. TAKATSUI F. **Sistema CIE LAB: análise computacional de fotografias.** 2011. 100 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas – Área de Dentística Restauradora. UNESP, Araraquara-SP.
74. CORCIOLANI G. **A Study of Dental Color Matching, Color Selection and Color Reproduction.** 2009. 187 f. Tese (Doutorado) -

Curso de Phd Program, School Of Dental Medicine, University Of Siena, Siena, 2009.

75. MEUNIER L, FERN MK, COCHRANE C, KONCAR V. **Flexible displays for smart clothing: Part II— Electrochromic displays.** Indian Journal of .Fibre & Textile Research, v. 36, pp. 429-435, dec 2011.
76. PIROLO R, MONDELLI RFL, CORRER GM, GONZAGA CC, FURUSE AY. **Effect of coffee and a cola-based soft drink on the color stability of bleached bovine incisors considering the time elapsed after bleaching.** J Appl. Oral Sci. Bauru, v.22, n.6, p. 534-540, Dec. 2014.
77. YIMING LI. **Tooth Color Measurement Using Chroma Meter: Techniques, Advantages, and Disadvantages.** Journal of Esthetic and Restorative Dentistry, v. 15 n. s1, p. S33–S41, 2003.
78. CAL E, GUNERI P, KOSE T. **Comparison of digital and spectrophotometric measurements of colour shade guides.** Journal of Oral Rehabilitation, n. 33, v. 3, p. 221-228, mar 2006.
79. OKUBO SR, KANAWATI A, RICHARDS MW, CHILDRESS S. **Evaluation of visual and instrument shade matching.** Journal of Prosthetic Dent, v. 80, n. 6, p. 642-648, dec 1998.
80. ASTRO WASHINGTON. **Acetic acid (CH₃COOH).** Disponível em: <http://vpl.astro.washington.edu/spectra/c2h4o2.htm>. Acesso em 26 de maio 2019.
81. NIST. National Institute of Standards and Technology. **Acetic acid.** Disponível em <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C64197&Mask=800#ESpeB>. Acesso em 26 de maio 2019.
82. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI. **Espectroscopia no Infravermelho.** Disponível em: <https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/frankimica/Quimica%20Analitica%20Aplicada%20II/Espectroscopia%20no%20infravermelho.pdf>. Acesso em 26 de maio 2019.

83. CHROMACADEMY. **Introduction to Infrared Spectroscopy**. Disponível em: http://chromacademy.com/lms/sco533/Introduction_To_Infrared_Spectroscopy.pdf Acesso em 26 de maio 2019.
84. PAVIA D, LAMPMAN G, KRIZ G, VYVYAN J. **Introdução a Espectroscopia**. 5 ed. Cengage Learning. 733 p.
85. ZAIONCZ S. **Estudo do efeito da plastificação interna do PVC quimicamente modificado**. 2004. 73f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química. UFPR. Curitiba-PR.
86. BRAUN, D. **Recycling of PVC**. Progress in Polymer Science, v.27, n.10, p.2171- 2195. 2002.
87. RODOLFO, A. Jr.; NUNES, L. R.; ORMANJI. W. **Tecnologia do PVC**. 2. ed. São Paulo: Pró-Editores / Braskem, 2006.
88. LATINI, G.; FERRI, M.; CHIELLINI, F. **Materials Degradation in PVC Medical Devices, DEHP Leaching and Neonatal Outcomes**. Current Medicinal Chemistry, v.16, n.26, p.2979-2989. 2010.
89. SPECTRA BASE. **PVC**. Disponível em: https://spectrabase.com/spectrum/I16VjGzhojE?a=SPECTRUM_I16VjGzhojE Acesso em 26 de maio 2019.
90. CHANDA M, ROY, SK. **Plastics Technology Handbook**. 4. ed. New York. Boca Raton: CRC Press, 2006. 568p.
91. BERNARD L, DÉCAUDIN B, LECOEUR M, RICHARD D, BOURDEAUX D, CUEFF R, SAUTOU V. **Analytical methods for the determination of DEHP plasticizer alternatives present in medical devices: A review**. Talanta, v. 129, n. 1, p.39- 54, nov 2014.
92. SPECTRA BASE. **TOTM**. Disponível em: https://spectrabase.com/spectrum/8MTai0Q73av?a=SPECTRUM_8MTai0Q73av Acesso em 26 de maio 2019.
93. RIGO J; MENDES TP; PIRES DA; CREMA MM. **Análise de infravermelho da associação de duas soluções irrigadoras utilizadas em endodontia**. Revista Inova Saúde, v. 9, n.2, 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.18616/inova.v9i2.4390>
94. National Institute of Standards and Technology (NIST). **Methylene blue**. Disponível em:

<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C61734&Mask=80>. Acesso em 26 de maio 2019.

95. PANZARINI LCGA; GUEDES SML. **Caracterização de filmes de PVC enxertados e heparinizados via radiação gama por espectroscopia FTIR.** *Polímeros*, v. 16, n.1, p. 1317- 1323, 2006. DOI 10.1590/S0104-14282006000100003
96. CUNHA DAS; CABRAL MRP; SOARES ERP; ANTONIO DS; CABEZA NA. **Aplicações da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) para caracterização de complexos.** *Anais do Encontro de ensino, pesquisa e extensão da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul*, n. 6, p. 1-12, 2014.
97. SVDIZINSKI TIE; SVDIZINSKI AE; POSSETO P; PADUA RAF; TAVARES TR. **Eficiência do ácido peracético no controle de staphylococcus aureus meticilina resistente.** *Cienc Cuid Saúde*, v. 6, n. 3, p. 312-318, 2007.
98. KITIS, M. **Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review.** *Enviroment. Int.*, v. 30, p. 47-55, 2004.
99. POLETO AP; HOSS J; WERMUTH SI; PORTELLA FF; ARTHUR RA; PONZONI D; SAMUEL SMW; PURICELLI E. **Efeito do ácido peracético sobre a adesão microbiana e as propriedades de tubos endotraqueais.** *RFO Passo Fundo*, v. 21, n.2, p.196-200, 2016.
100. ESTRELA C, ESTRELA CRA, BARBIN EL, SPANÓ JLC, MARCHESAN MA, PÉCORA JD. **Mechanism of action of sodium hypochlorite.** *Braz Dent J.*, v.13, n. 2, p.113-7, 2002.
101. Beltran M; Garcia JC; Marcilla A. **Infrared Spectral Changes in PVC and Plasticized PVC during Gelation and Fusion.** *European Polymer Journal*, v. 33, p. 453-462, 1997. DOI 10.1016/S0014-3057(96)00213-3
102. M. Theodorou; B. Jasse J. *Polym. Sci:Polym. Phys.* 1983, 21, 2263-2274
103. K.E. Hammel; P. J. Tardone *Biochem.* 1988, 27, 6563-6568.

104. RODOLFO JR A; MEI LHI. **Mecanismos de degradação e estabilização térmica do PVC**. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 17, n.3, p. 263-275, 2007.