

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 29/03/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E
BIOPROCESSOS

MESTRADO PROFISSIONAL

DESENVOLVIMENTO DE PROTÓTIPO PARA REMOÇÃO DE
BIOFILMES EM TUBULAÇÕES DE ÁGUA DO CIRCUITO DE
HEMODIÁLISE UTILIZANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA-C.

FERNANDO ANTONIO STORION JUNIOR

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANA MARISA FUSCO
ALMEIDA

ARARAQUARA - SP

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JULIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CÂMPUS DE ARARAQUARA

DESENVOLVIMENTO DE PROTÓTIPO PARA REMOÇÃO DE
BIOFILMES EM TUBULAÇÕES DE ÁGUA DO CIRCUITO DE
HEMODIÁLISE UTILIZANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA-C.

FERNANDO ANTONIO STORION JUNIOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. ANA MARISA FUSCO

ALMEIDA

ARARAQUARA - SP

2023

S884d

Storion Junior, Fernando Antonio.

Desenvolvimento de protótipo para remoção de biofilmes em tubulações de água do circuito de hemodiálise utilizando radiação Ultravioleta-C / Fernando Antonio Storion Junior. – Araraquara: [S.n.], 2023.

91 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientadora: Ana Marisa Fusco Almeida.

1. Hemodiálise. 2. Água. 3. Biofilmes. 4. LEDs UVC. 5. Esterilização.
I. Fusco Almeida, Ana Marisa, orient. II. Título.

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas

UNESP - Campus de Araraquara

CAPES: 33004030170P0

Esta ficha não pode ser modificada

Câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Desenvolvimento de protótipo para remoção de biofilmes em tubulações de água do circuito de hemodiálise utilizando radiação Ultravioleta-C

AUTOR: FERNANDO ANTONIO STORION JUNIOR

ORIENTADORA: ANA MARISA FUSCO ALMEIDA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ANA MARISA FUSCO ALMEIDA (Participação Virtual)
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Prof. Dr. DARÍO ABEL PALMIERI (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras do Campus de Assis da Unesp

Dra. ELOISA APARECIDA MOCHEUTI KRONKA (Participação Virtual)
All Sukkar Biotecnologia Industrial

Araraquara, 29 de março de 2023

Agradecimentos

Dentre todos aqueles que me ajudaram a tornar este trabalho realidade, gostaria especialmente de agradecer:

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, campus de Araraquara – SP e ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos pela oportunidade de realizar este mestrado.

Ao SEBRAE, pela aprovação deste projeto em seu programa de fomento: Catalisa – ICT e pelo financiamento que permitiu a viabilização financeira desta pesquisa.

A minha orientadora Ana Marisa Fusco Almeida pela ajuda, conselhos, orientações e oportunidades fornecidas durante os dois anos de vigência deste trabalho.

Aos mestrandos e amigos Tiago Azevedo Cunha e Angélica Romão Carvalho, pela cooperação em momentos e etapas decisivas da elaboração e conclusão deste trabalho.

A todos os pesquisadores do laboratório de Proteômica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas pelos treinamentos e auxílios fornecidos em ambiente laboratorial.

A empresa NOCK – Pesquisa e Desenvolvimento de Equipamentos de Esterilização Ltda, da qual sou sócio, e todos os colaboradores diretos e indiretos da empresa pelo envolvimento na execução da pesquisa.

Ao Hospital de Base de São José do Rio Preto – SP, Santa Casa de misericórdia de São Carlos – SP e Clínica da Vitta de Bauru – SP, por abrir as portas de suas clínicas de hemodiálise para a realização de visitas técnicas, que permitiram o melhor entendimento e desenvolvimento do trabalho.

A minha família, meus pais Márcia e Fernando Storion e minhas Avós Maria e Laudina pelo suporte emocional e financeiro, por lapidar, desde a minha primeira infância, o caminho para que eu pudesse chegar até este ponto e por ser a base e refúgio para momentos de dificuldade e também para momentos de felicidade.

A Heloísa Guerra, minha namorada, pelo enorme companheirismo, por todo o suporte emocional e por todos os momentos felizes que me ajudam a seguir em frente e me estimulam a ser sempre uma pessoa e um profissional melhor.

Por fim, a todos os meus amigos e amigas que fazem parte da minha jornada e tornam meus dias mais leves e divertidos, em especial aos meus amigos de infância André, Heloísa, Luis Fernando, Thiago e Matheus e aos meus amigos de faculdade João Vinicius, Rodrigo, Tiago e Thomson.

Resumo

O tratamento de hemodiálise, que realiza o processo de filtragem artificial dos rins, é altamente invasivo e torna seus pacientes imunossuprimidos. Os quase 150 mil pacientes que realizam hemodiálise por ano apresentam uma taxa anual de morte de 25% e tem a contaminação como a segunda maior causa de morte. Dentre a diversas formas que uma pessoa com doença renal crônica (DRC) tem de se contaminar, a contaminação da água é uma das mais relevantes, pois um paciente entra em contato com até 600L de água por semana, que cairá diretamente em sua corrente sanguínea. Um dos maiores problemas da contaminação da água é a formação de biofilmes nos ductos que ligam a estação de tratamento às máquinas de hemodiálise, pois trata-se de um sistema longo e interconectado que normalmente recebe apenas uma desinfecção química mensal. Esses biofilmes podem liberar endotoxinas capazes de causar diversas comorbidades e até a morte. Portanto, este trabalho traz uma solução para a esterilização de paredes dos ductos de água de hemodiálise, que é a esterilização através de LEDs emissores de radiação Ultravioleta-C (UVC), uma onda eletromagnética capaz de quebrar cadeias de DNA dos microrganismos. Este trabalho consistiu na: comprovação microbiológica de eficácia dos LEDs UVC contra os biofilmes fúngicos e bacterianos das principais espécies encontradas em circuitos de hemodiálise através da confecção de um corpo de prova que foi aplicado sobre placas de microtitulação de 96 poços; na pesquisa e construção de um protótipo que funcione como um cateter invólucro de fitas de LED UVC e que pudesse ser introduzido dentro das tubulações dos circuito de tratamento de água de hemodiálise. Resultados mostraram a viabilidade e exequibilidade do protótipo, bem como o potencial de esterilização dos LEDs UVC frente a biofilmes fúngicos de leveduras e filamentosos e biofilmes bacterianos em estado de completa maturação com uma dose de 2,3J/cm² aplicado durante 2h.

Palavras-chave: hemodiálise, água, biofilmes; LEDs UVC; esterilização

Abstract

Hemodialysis treatment, which performs the process of artificial filtering of the kidneys, is highly invasive and makes its patients immunosuppressed. The nearly 150,000 patients who undergo hemodialysis in a year have an annual death rate of 25% and contamination is the second biggest cause of death. Among the several ways that a person with chronic kidney disease (CKD) can contract this contamination, the water contamination is one of the most relevant, as a patient comes into contact with up to 600L of water per week, which enters in direct contact with their blood flow. One of the biggest problems of water contamination is the formation of biofilms in the ducts that connect the filtration treatment plant to the hemodialysis machines, as it is a long and interconnected system that normally receives only a monthly chemical disinfection. These biofilms can release endotoxins capable of causing several comorbidities and even death. Therefore, this work brings a solution for the sterilization of walls of hemodialysis water ducts, which is sterilization through LEDs emitting Ultraviolet-C (UVC) radiation, an electromagnetic wave capable of breaking DNA chains of microorganisms. This work consisted of: microbiological proof of the effectiveness of UVC LEDs against fungal and bacterial biofilms of the main species found in hemodialysis circuits by making a first prototype that was applied to 96-well microtiter plates; the research and construction of a more faithful prototype that works as a catheter with UVC LED strips inside it and that could be introduced into the pipes of the hemodialysis water treatment circuit. Results showed the feasibility of the faithful prototype, as well as the sterilization potential of UVC LEDs against yeast and filamentous fungal biofilms and bacterial biofilms in a state of complete maturation with a dose of 2.3J/cm² applied for 2h.

Keywords: hemodialysis, water, biofilms; UVC LEDs; sterilization

Lista de Figuras

Figura 1:	Filtragem por difusão dentro do dialisador.....	17
Figura 2:	Número de pacientes em tratamento de hemodiálise no Brasil.....	18
Figura 3:	Taxa de mortalidade anual de pacientes em hemodiálise no Brasil.....	18
Figura 4:	Processo de filtragem de água para hemodiálise mais utilizado no Brasil.....	20
Figura 5:	Eficácia do poder germicida (%) em relação ao comprimento da onda eletromagnética (λ).....	22
Figura 6:	Buscas por patentes no INPI relacionando a UVC à hemodiálise (a) e à água (b).....	31
Figura 7:	Desenho esquemático da configuração de circuito em série e paralelo.....	36
Figura 8:	Desenho esquemático do circuito elétrico do corpo de prova.....	37
Figura 9:	Corpo de prova montado (a); disposição dos LED's de maneira a produzir incidência direta de um LED por poço (b) e utilização do corpo de prova durante o procedimento experimental (c).....	38
Figura 10:	Esquema simplificado da incidência de radiação nos poços.....	40
Figura 11:	Curva de absorbância da <i>C. albicans</i> em meio DSG.....	54
Figura 12:	Curva de absorbância da <i>C. albicans</i> em meio DCG.....	54
Figura 13:	Curva de absorbância da resazurina para a <i>C. albicans</i>	55
Figura 14:	Curva de absorbância da <i>C. parapsilosis</i> para a resazurina.....	56
Figura 15:	% de inibição celular da <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> após 2h de exposição à radiação UVC.....	56
Figura 16:	Porcentagem de biomassa dos biofilmes de <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> após exposição UVC.....	59
Figura 17:	Crescimento em UFC/ml dos controles de <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> em meio DSG, DCG e RPMI.....	60
Figura 18:	Crescimento de UFC de <i>C. albicans</i> (a) e <i>C. parapsilosis</i> (b) após período de incubação.....	61
Figura 19:	Curva de absorbância da resazurina para a <i>K. pneumoniae</i>	62
Figura 20:	Curva de absorbância da resazurina para a <i>P. aeruginosa</i>	62

Figura 21:	% de inibição celular dos biofilmes de <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> após 2h de exposição à UVC.....	63
Figura 22:	Porcentagem de biomassa dos biofilmes de <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> após exposição UVC.....	65
Figura 23:	Contagem de UFC dos controles de <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> em meios DSG e DCG.....	67
Figura 24:	Contagem de UFC de <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> em meio caldo MH.....	67
Figura 25:	Crescimento de UFC de <i>K. pneumoniae</i> (a) e <i>P. aeruginosa</i> após 24h de incubação (b).....	68
Figura 26:	Curva de absorbância da resazurina para o <i>A. fumigatus</i>	69
Figura 27:	Curva de absorbância da resazurina para o <i>A. niger</i>	70
Figura 28:	% de inibição celular dos biofilmes de <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i> após 2h de exposição à UVC.....	71
Figura 29:	% de biomassa dos biofilmes de <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i> após exposição UVC.....	73
Figura 30:	Crescimento de UFC de <i>A. fumigatus</i> (a) e <i>A. niger</i> após 30h de incubação (b).....	74
Figura 31:	Crescimento em UFC/ml dos controles de <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i> em meio DSG, DCG e RPMI.....	75
Figura 32:	Fita de LED adquirida.....	76
Figura 33:	Figura esquemática para a determinação da distância mínima.....	76
Figura 34:	Transmitância de materiais poliméricos fotoquímicos.....	77
Figura 35:	Amostra do cateter.....	78
Figura 36:	Vistas frontal e lateral do sistema de esterilização do protótipo.....	79
Figura 37:	Desenho técnico do protótipo.....	80

Lista de Tabelas

Tabela 1:	Análise estatística de inibição de viabilidade celular para os biofilmes de <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	57
Tabela 2:	Análise estatística para redução de biomassa através do método cristal violeta para <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	59
Tabela 3:	Análise estatística de inibição de viabilidade celular para os biofilmes de <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	64
Tabela 4:	Análise estatística para redução de biomassa através do método cristal violeta para <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	66
Tabela 5:	Análise estatística de inibição de viabilidade celular para os biofilmes de <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	72
Tabela 6:	Análise estatística para redução de biomassa através do método cristal violeta para <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	73

Lista de Abreviaturas

ANVISA:	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLSI:	<i>Clinical & Laboratorial Standards Institute</i>
DCG:	Dialisato Com Glicose
DNA:	Ácido Desoxirribunucleico
DRC:	Doença Renal Crônica
DSG:	Dialisato Sem Glicose
ETFE:	Etileno Tetrafluoroetileno
INPI:	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
LED:	<i>Light Emitting-Diode</i>
MH:	<i>Mueller Hinton</i>
PBS:	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PVC:	Policloreto de Vinila
RDC:	Resolução da Diretoria Colegiada
RPMI:	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SBN:	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SEBRAE:	Serviço Brasileiro de Apoio as Empresas
SENAI:	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
TRL:	<i>Time Readness Level</i>
UFC:	Unidades Formadoras de Colônia
USRDS:	<i>United States Renal Data System</i>
UVA:	Ultravioleta-A
UVB:	Ultravioleta-B
UVC:	Ultravioleta-C
VDC:	Fonte de Tensão Contínua
a :	Ângulo de iluminação do LED (em °)
d :	Diametro do poço da placa de microtitulação de 96 poços (cm)
h :	Altura do LED em relação ao fundo do poço (cm)
$h1$:	Distância do LED à parede da tubulação (cm)
I :	Corrente Elétrica do LED (A)
P :	Confiabilidade de 95%
P_L :	Potência nominal do LED (W)

r : Distância entre o LED e qualquer objeto que se pretende irradiar (cm)
 r_1 : Distância perpendicular entre o LED e o fundo do poço (cm)
 r_2 : Distância entre o LED e a aresta do poço (cm)
 R : Valor da nominal dos resistores do circuito do corpo de prova (Ω)
 R_i : Resistência elétrica (Ω)
 t : Tempo de exposição do experimento (s)
 V_L : Tensão Elétrica do LED (V)
 V_R : Tensão Elétrica do resistor (V)
 λ : Comprimento de onda eletromagnética (nm)
 $\emptyset$: Intensidade de radiação ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)
 φ : Dose de radiação (mJ/cm^2)
%: Porcentagem

Sumário

1	Introdução.....	17
2	Objetivos.....	24
3	Revisão Bibliográfica.....	26
3.1	Revisão Científica.....	26
3.1.1	Revisão de utilização da tecnologia UVC na remoção de biofilmes.....	26
3.1.2	Outros métodos de desinfecção utilizados na desinfecção de tubulações de água do circuito de hemodiálise.....	30
3.2	Revisão de propriedade industrial.....	31
3.3	Busca Mercadológica.....	33
4	Metodologia.....	35
4.1	Comprovação microbiológica.....	35
4.1.1	Construção do corpo de prova e testes pré-experimentais.....	35
4.1.2	Microrganismos e meios de cultura utilizados durante o experimento.....	41
4.1.3	Metodologia de análise para <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. albicans</i>	42
4.1.3.1	Condições de cultivo e exposição à UVC das espécies <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. albicans</i>	42
4.1.3.2	Atividade metabólica da <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. albicans</i> através do ensaio de resazurina.....	43
4.1.3.3	Análise de biomassa da <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. albicans</i> através do ensaio de cristal violeta.....	44
4.1.3.4	Contagem de UFC da <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. albicans</i>	44
4.1.4	Metodologia de análise para <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	45
4.1.4.1	Condições de cultivo e exposição à UVC das espécies <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	45
4.1.4.2	Atividade metabólica da <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> através do ensaio de resazurina.....	45
4.1.4.3	Análise de biomassa da <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i> através do ensaio de cristal violeta.....	46
4.1.4.4	Contagem de UFC da <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	47
4.1.5	Metodologia de análise para <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	47

4.1.5.1	Condições de cultivo e exposição à UVC das espécies <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	48
4.1.5.2	Atividade metabólica da <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i> através do ensaio de resazurina.....	48
4.1.5.3	Análise de biomassa da <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i> através do ensaio de cristal violeta.....	49
4.1.5.4	Contagem de UFC do <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	49
4.2	Definição de parâmetros para a construção do protótipo.....	50
5	Resultados	52
5.1	Confecção do corpo de prova para comprovação antimicrobiana.....	52
5.2	Testes microbiológicos em <i>Candida albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i>	53
5.2.1	Testes de atividade metabólica através da Resazurina em <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	53
5.2.2	Quantificação de biomassa através de Cristal Violeta em <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	58
5.2.3	Contagem de Unidades Formadoras de Colônias para <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i>	59
5.3	Testes microbiológicos em <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
5.3.1	Testes de atividade metabólica através da Resazurina em <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	61
5.3.2	Quantificação de biomassa através de Cristal Violeta em <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	65
5.3.3	Contagem de Unidades Formadoras de Colônias em <i>K. pneumoniae</i> e <i>P. aeruginosa</i>	66
5.4	Testes microbiológicos em <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Aspergillus niger</i>	69
5.4.1	Testes de atividade metabólica através da Resazurina em <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	69
5.4.2	Quantificação de biomassa através de Cristal Violeta em <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	72
5.4.3	Contagem de Unidades Formadoras de Colônias em <i>A. fumigatus</i> e <i>A. niger</i>	74
5.5	Definição de parâmetros para a construção do protótipo.....	76

5.5.1	Definição da fita de LED.....	76
5.5.2	Definição do cateter.....	77
5.5.3	Desenho do protótipo.....	79
6	Discussão.....	80
7	Conclusões.....	83
7.1	Perspectivas da pesquisa.....	83
7.2	Perspectivas de investimento.....	84
7.3	Perspectivas mercadológicas.....	85
8	Referências.....	87

1. Introdução

A hemodiálise consiste em um processo alternativo de filtragem do sangue, substituindo a função dos rins na remoção de toxinas e excesso de água do organismo quando estes apresentam uma falha crônica em seu funcionamento. O principal instrumento responsável pela filtragem do sangue no circuito de hemodiálise é o dialisador (rim artificial), onde o sangue rico em toxinas é filtrado por difusão, junto ao dialisante, que é constituído essencialmente por água altamente purificada com sais minerais ricos em eletrólitos. A Figura 1 ilustra o esquema de funcionamento de filtragem por difusão.

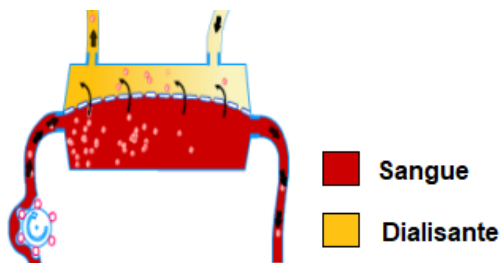


Figura 1 – Filtragem por difusão dentro do dialisador (do VAL, 2019)

No dialisador, os eletrólitos do dialisante retiram componentes químicos tóxicos do sangue, como a ureia, que deveriam ser eliminados pela urina no processo de filtragem natural dos rins. Além disso, durante a difusão, a retirada do excesso de água do sangue é viabilizada pela alta concentração do dialisante, tornando-o indispensável à filtragem do sangue e fundamental ao processo de hemodiálise.

O procedimento de hemodiálise é altamente invasivo e seus pacientes, devido as condições de saúde que a doença renal crônica impõe, são imunossuprimidos e altamente suscetíveis a contração de doenças e contaminações. O Censo Brasileiro de Nefrologia (2020) (NERBASS et. al., 2022), encomendado pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), traz os números e taxa de mortalidade de pacientes hemodialíticos em 2020 na Figura 2 e Figura 3, respectivamente.

Como podemos ver na Figura 2, o número de pacientes que demandam um tratamento devido a apresentação de um problema renal crônico vem crescendo no Brasil em uma taxa constante e suas causas estão relacionadas a diferentes fatores, tendo o diabetes e a hipertensão como os principais responsáveis no aumento desses números. Associado a isso, existe uma subnotificação da demanda real pelo

tratamento de hemodiálise, devido à falta de acesso a clínicas em regiões mais carentes.

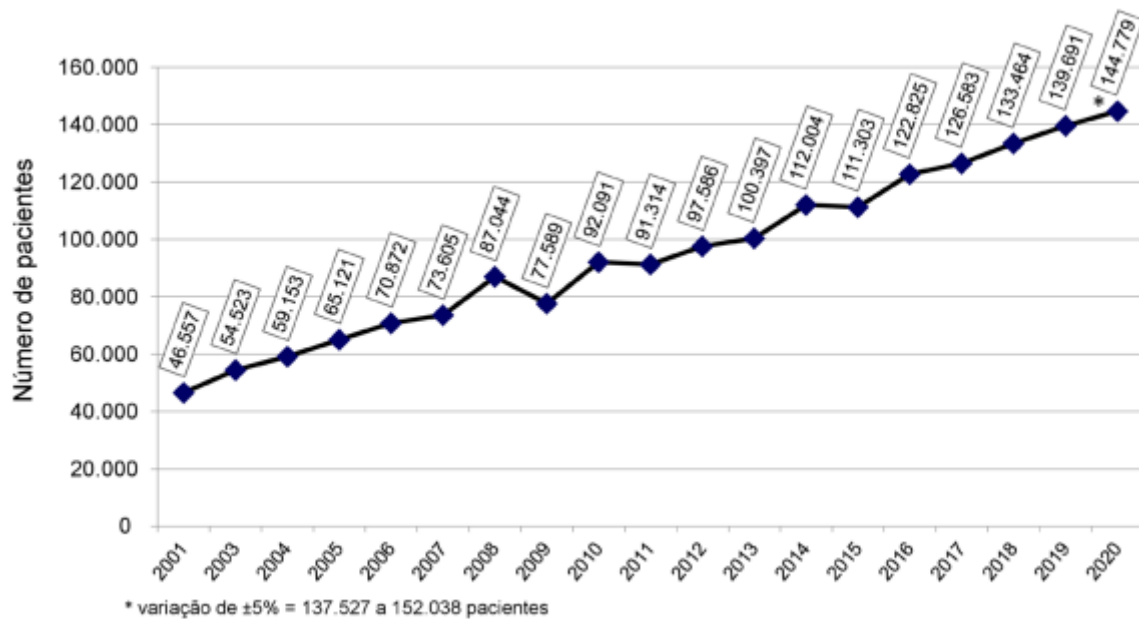


Figura 2 – Número de pacientes em tratamento de hemodiálise no Brasil

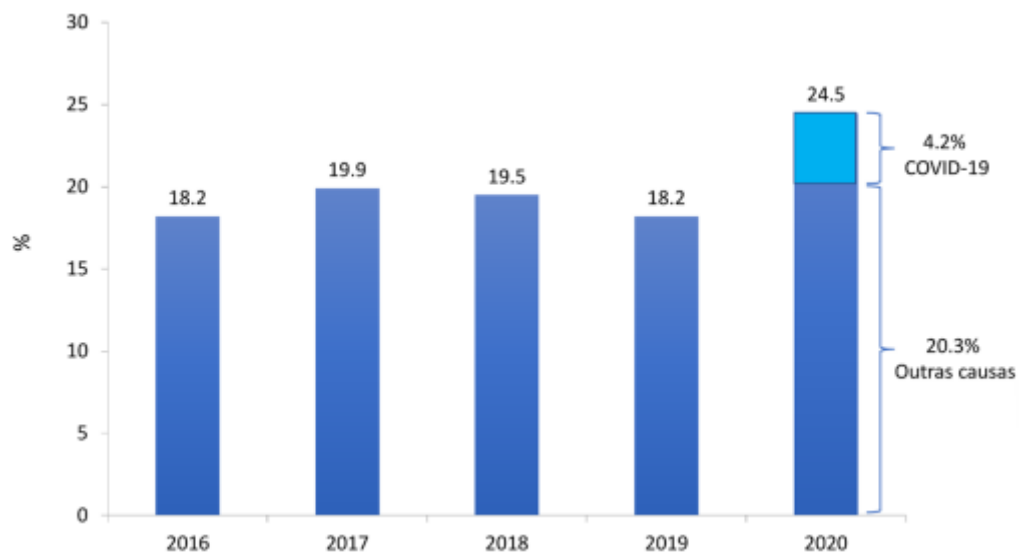


Figura 3 – Taxa de mortalidade anual de pacientes em hemodiálise no Brasil

A Figura 3 nos mostra a altíssima taxa de mortalidade anual daqueles que se submetem ao tratamento de hemodiálise, chegando ao pico com um índice de 24,5% no ano de 2020, considerando-se as mortes decorrentes da Pandemia de Covid-19. Esse número não só assusta, mas demonstra a condição imunossuprimida dos

pacientes, onde a morte por Covid-19 ficou em 176 mortes a cada 10 mil pessoas (NERBASS et. al., 2022). Caso esse fosse o número médio de mortes no mundo por Covid-19, a pandemia teria matado 123,2 milhões de pessoas e não 6,6 milhões, que são os dados atuais.

Quando olhamos para a *United States Renal Data System* (USRDS) (2019), base de dados americana de pacientes com Doenças Renais Crônicas (DRC), nos Estados Unidos o número de pacientes em tratamento de hemodiálise supera os 400 mil e o seu custo é cerca de um sexto de todo o gasto em saúde americano, que é de cerca de 280 bilhões de dólares, ou seja, cerca de 50 bilhões de dólares. Ainda, segundo Htay et. al. (2021), em uma publicação no *American Journal of Kidney Diseases* (AJKD), existem, no mundo, cerca de 4,5 centros de hemodiálise por milhão de pessoas e que cada paciente custa em média, por ano, USD 22.616,80. Ao estimar esses números para uma população mundial de 8 bilhões de habitantes, chegamos ao número de cerca de 36.000 clínicas e gastos anuais superiores a USD 81,42 bilhões somente com pacientes.

Estima-se que contaminações e infecções hospitalares são a segunda maior causa de morte dentre todos os que se submetem a esse tratamento e, enquanto a falha renal e morte decorrentes desta falha são os casos mais bem notificados, as contaminações são comumente subnotificadas devido ao equívoco de sinalizar esse tipo de morte como simples decorrência do problema renal (GUPTA & YASSIN, 2013). Dentro do campo da contaminação, a contaminação da água utilizada no processo de filtragem do sangue é um dos mais graves, pois estima-se que um paciente em tratamento usa cerca de 360 a 600 litros de água por semana (WARD, 2011). Caso a água não esteja devidamente filtrada, ela pode acabar sendo contaminada química e/ou microbiologicamente e adentrar na corrente sanguínea daqueles com DRC, causando efeitos colaterais adversos e muitas vezes difíceis de detectar (COULLIETE & ARDUINO, 2013).

Durante o tratamento da água, ela passa por diversos níveis de filtragem até chegar à máquina de hemodiálise e entrar na corrente sanguínea dos pacientes, como mostra a Figura 4. A Figura 4 mostra o sistema padrão de tratamento de água estabelecido pelas Resoluções de Diretoria Colegiada (RDC) RDC nº 154/2004 e RDC nº 11/2014 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nele, a água que chega do sistema de abastecimento (*tap water*) é armazenada em um reservatório. Em seguida, ela passa necessariamente por pelo menos 4 etapas de filtragem, sendo

três delas de filtragem química e pelo menos um passo de filtragem por osmose reversa. Por fim, a água é armazenada em um segundo tanque reservatório (*tank*), onde ela entra em processo de recirculação contínuo em um sistema de tubulações que conectam esse tanque com as máquinas de hemodiálise, fazendo com que as máquinas recebam essa água como insumo para a formação do dialisato que será utilizado na filtragem sanguínea.

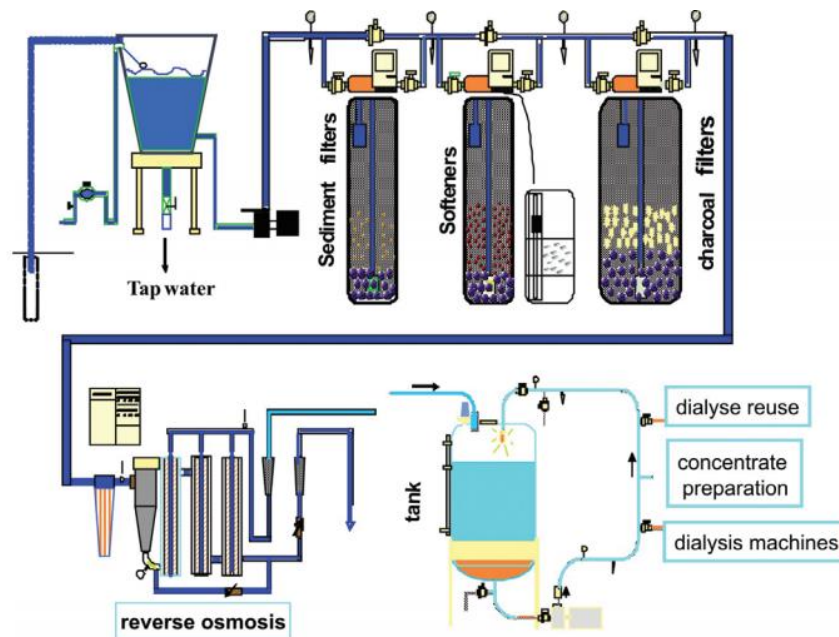


Figura 4 – Processo de filtragem de água para hemodiálise mais utilizado no Brasil (MONTARI et.al, 2009)

O sistema de filtragem da água, dependendo do tamanho da clínica e o seu número de pacientes, pode ser extenso e conter diversas interconexões tubulares para que ela possa ser entregue até as máquinas onde ocorrerá a filtragem sanguínea por difusão. Essas tubulações que conectam o tanque reservatório (*tank*, da Figura 4) às máquinas de hemodiálise precisam ser mantidas o mais simples possível em ordem de tentar evitar que curvas, cotovelos, diferenças de altura, dentre outras variáveis físicas possibilitem a deposição e a possível formação de colônias de microrganismos, denominadas biofilmes (ISAKOZAWA; MIGITA; TAKESAWA, 2016). Essa formação colonial, muito comum em tubulações, formada por diferentes tipos de microrganismos como bactérias, fungos e protozoários, é fonte constante de endotoxinas, peptidoglicano e fragmentos de DNA bacteriano (YAZAKASAWA; MIGITA; TAKESAWA, 2016).

Esses compostos liberados pelos microrganismos, capazes de atravessar a membrana de filtragem do dialisador, podem entrar na corrente sanguínea do paciente, causando febre, hipotensão, enxaqueca e/ou náusea e infecções sistêmicas graves, principais efeitos colaterais apresentados pelos que se submetem à hemodiálise (VERMA et.al, 2015). Estudos sugerem que a exposição contínua por longos períodos às endotoxinas é responsável por causar doenças à longo prazo como morbidade, β 2 amiloidose e aterosclerose (VERMA et.al, 2015).

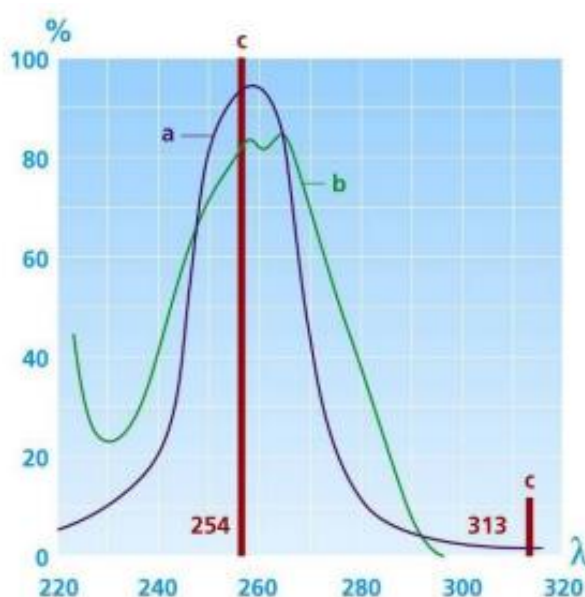
Bactérias representadas pelos bacilos Gram Negativos também co-habitam biofilmes em sistemas de hemodiálises e *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram Negativo não fermentador de veiculação hídrica, capaz de formar biofilmes, sendo um dos encontrados mais frequentemente em surtos de infecções associadas à pacientes usuários de hemodiálises (NOVOSAD et. al., 2019). Além disso, fungos oferecem um risco adicional devido às complicações decorrentes de suas infecções sistêmicas, sendo *Aspergillus sp*, *Candida sp* e *Fusarium sp* os gêneros mais estudados em ambientes de hemodiálise recentemente (OLIVEIRA et. al., 2018). Em Pires-Gonçalves et. al. (2008), foi realizada uma análise da água de hemodiálise em um centro do estado de São Paulo, encontrando mais de 9 tipos de fungos patogênicos, dentre eles os do gênero *Aspergillus sp* e *Cândida sp*.

O atual método de prevenção de formação de biofilmes nas paredes das tubulações e que atualmente é preconizado pela ANVISA é o método de remoção química, principalmente através da utilização de ácido peracético. Além disso, as RDCs preveem, como obrigatório às clínicas de hemodiálise, uma desinfecção química mensal, enquanto biofilmes bacterianos de *P. aeruginosa* e do gênero *Cândida sp*. se formam, em condições favoráveis, em apenas 24 e 48h, respectivamente, segundo a padronização da *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Além disso, revisões bibliográficas como as de Isakozawa, Migita e Takesawa (2016), Marion-Ferey et.al (2003) e Holmes et.al (2004), mostram que métodos de remoção química apresentam o mesmo tipo de dificuldade: a descontaminação exige um cuidado especial e dificultoso por utilizar agentes químicos e tóxicos ao ser humano, que podem causar diferentes efeitos colaterais nos pacientes.

Uma nova alternativa de desinfecção, apresentada nesta proposta de pesquisa, busca utilizar um método físico alternativo como sanitizante: a radiação ultravioleta de baixo comprimento de onda (UVC), que possui uma tecnologia germicida com alta

eficácia e cientificamente comprovada onde, segundo a Sociedade Internacional Ultravioleta, uma dose de 40 mJ/cm² para o comprimento de onda de 254 nm é suficiente para inativar pelo menos 99,99% de qualquer microrganismo patogênico em sua forma planctônica (celular) (MACKENZIE, 2020; MALAYERI, 2006).

A radiação ultravioleta são ondas eletromagnéticas que compreendem três diferentes faixas de comprimento de onda: UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) e UVC (200-290 nm) (WIDEL et.al, 2014). Os raios UVC são os que possuem o maior poder germicida, pois sua radiação tem a capacidade de matar ou inativar microrganismos por meio da danificação do DNA (REEDA, 2010). O principal modo de inativação ocorre quando a absorção do fóton forma dímeros de pirimidina entre as bases nitrogenadas de timina adjacentes do DNA, incapacitando o processo de reprodução desses microrganismos (REEDA, 2010). A Figura 5 ilustra a eficácia (%) do poder germicida UVC em relação ao comprimento de onda eletromagnética (λ [nm]).



- a – Curva de absorção do efeito germicida pelo microrganismo.
- b – Curva de absorção do DNA.
- c – Comprimento de onda de emissão das lâmpadas de mercúrio.

Figura 5 – Eficácia do poder germicida (%) em relação ao comprimento da onda eletromagnética (λ) (RENZEL, 2016).

Como podemos ver, o pico de eficácia germicida do espectro UVC, representado pelas curvas “a” e “b”, se dá entre a faixa de 250 – 270nm, tendo as lâmpadas UVC de baixa pressão de mercúrio, que são as mais comumente comercializadas, com pico de 254nm (curva “c”). Entretanto, dada a problemática da

contaminação em ductos de água do circuito de hemodiálise, é impossível fazer uma desinfecção interna dessas tubulações utilizando uma lâmpada por impedimentos físicos e estruturais (RENZEL, 2016). Portanto, uma nova tecnologia foi buscada para que a lâmpada de baixa pressão de mercúrio pudesse ser substituída, descobrindo-se os *light-emitting diodes* (LEDs) emissores de radiação UVC com pico variando entre 260 – 270nm. Esses LEDs, além de possuírem dimensões reduzidas que permitem a aplicação em ambientes menores, ainda estão dentro da melhor faixa de comprimento de onda eletromagnética germicida e não possuem núcleo de mercúrio, tornando-os mais ecológicos.

A próxima Seção mostrará a revisão bibliográfica realizada em cima dessa tecnologia germicida através do uso de LEDs na remoção dos principais biofilmes encontrados em sistemas de tratamento de água de hemodiálise, tecnologias utilizadas na desinfecção de tubulações e soluções já existentes no mercado que possam ser um impeditivo no desenvolvimento tecnológico desta solução.

7. Conclusões

Os testes e estudos realizados nos permitiram chegar as seguintes conclusões:

- A radiação UVC atingiu eficácia de esterilização em biofilmes de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *K. Pneumoniae*, *P. Aeruginosa*, *A. fumigatus* e *A. niger* quando cultivados em meios dialisato sem glicose e dialisato com glicose com 2h de exposição e dose de radiação de 2,3J/cm²;
- Os LEDs não foram capazes de destruir a matriz extracelular dos biofilmes de nenhuma das espécies, conservando a biomassa produzida durante sua formação;
- A análise de viabilidade celular, quantificação de biomassa e UFC em conjunto trouxeram uma visão mais ampla e assertiva do comportamento dos biofilmes após a radiação UVC;
- Os biofilmes bacterianos não foram inviabilizados após 2h de irradiação quando cultivados em caldo MH;
- Foi possível encontrar o material que consistirá no cateter e as fitas de LEDs, de forma a possibilitar o cumprimento de todas as demandas de características técnicas que se definiram como essenciais para a viabilização da construção do protótipo;
- O desenho já realizado permite a construção de um protótipo que viabiliza a submissão de uma patente de processo e a viabiliza a escrita e submissão futura de uma patente de produto;

O desenvolvimento desse projeto demandará estudos futuros que viabilizarão este como um produto aplicável e que proporcionarão sua aplicação em ambiente clínico-hospitalar real. Os trabalhos futuros deste projeto são identificados abaixo.

7.1. Perspectivas da pesquisa

Para a perspectiva de pesquisa, existem pontos que ainda precisam ser analisados para viabilizar financeiramente o protótipo:

1. Testes de citotoxicidade da matriz extracelular após exposição à UVC. Como foi mostrado na seção dos Resultados, embora os LEDs tenham inviabilizado totalmente os biofilmes do gênero *Cândida* e as bactérias *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, eles não foram capazes de destruir a matriz extracelular dos biofilmes formados. Portanto, será necessário analisar a possibilidade dessa matriz extracelular liberar endotoxinas na água que possam ser prejudiciais aos pacientes. Para analisar essa citotoxicidade, serão utilizados os animais alternativos *galeria melonella* e *zebrafish*, onde será feita a infecção desses animais utilizando-se os líquidos dialisato dos experimentos após a exposição à radiação UVC;
2. Testes de eficácia sobre o protótipo. O protótipo construído demandará testes de eficácia e citotoxicidade para comprovar que os testes que comprovaram a eficácia da radiação UVC *in vitro* funcionarão também em ambiente real.

7.2. Perspectivas de investimento

O projeto de pesquisa em desenvolvimento conta, atualmente, com um investimento do SEBRAE através do programa Catalisa ICT no valor de R\$ 146.000,00 não reembolsáveis para o desenvolvimento deste projeto. Desse valor, R\$ 126.000,00 são destinados ao pagamento de bolsas para três pesquisadores da pós-graduação das Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara que participam do desenvolvimento deste projeto: Fernando Antonio Storion Junior, Angélica Romão de Carvalho e Tiago Azevedo Cunha. O restante do valor é destinado para a compra de insumos de pesquisa e para o desenvolvimento do protótipo. Dentro do plano de atividades desse programa, foi estipulado que o projeto se desenvolvesse de uma *Time Readness Level* (TRL) 2 até uma TRL5, que prevê a finalização de testes em ambiente relevante. As TRLs são indicadores de desenvolvimento de um projeto de cunho tecnológico desde a sua ideação até a sua introdução no mercado.

No começo do ano de 2023 espera-se que haja o edital para a próxima fase do Catalisa ICT, prevendo um financiamento de R\$ 450.000,00. Além disso, este projeto será submetido diretamente a um edital PIPE Fase 2 direta com o pedido de investimento de R\$ 1.000.000,00. Estes dois programas de fomento terão o intuito de atingir uma TRL8, que indica um produto pronto para a sua regulamentação e posterior comercialização. Nesta próxima fase, serão buscados testes em ambiente

real através da interveniência do comitê de ética da clínica e/ou hospital parceiros, testes em laboratório credenciados ANVISA e estruturação do produto para a venda. Nessa próxima etapa também será montado o modelo de negócio que visará o tipo de venda que será realizada.

7.3. Perspectivas mercadológicas

Buscar-se-á, ao fim do programa de mestrado, submeter mais de um requerimento de pedido de propriedade industrial. Segundo pesquisas mercadológicas e de antecedentes de patentes mostrada na revisão da literatura, verificou-se a possibilidade de submissão de ao menos dois tipos diferentes de patentes:

1. Patente de processo: Será submetida uma patente que busca proteger a metodologia de esterilização de ductos de água do circuito de hemodiálise através da tecnologia de LEDs emissores de radiação UVC. Além disso, um levantamento futuro será realizado a fim de verificar se é possível aumentar a abrangência deste processo para outros tipos de tubulações de água que não são apenas destinadas ao tratamento de hemodiálise. Nesta patente, será protegido o uso de LEDs UVC como método de remoção de biofilmes que se formam na parede de tubulações, a metodologia de varredura de toda a superfície interna da tubulação e a metodologia de aplicação diária desse sistema;
2. Patente de produto: Também será submetida uma solicitação de pedido de patente em propriedade industrial sobre o protótipo de esterilização desenvolvido, que contará com o sistema de fitas de LED dispostos de forma a fazer a varredura radial e longitudinal de toda a superfície da tubulação, do cateter constituído de ETFE como invólucro protetor e transmissível dos LEDs UVC, um sistema de inserção e remoção na tubulação de forma estéril, anéis rolantes que permitam o posicionamento do cateter no centro da tubulação e sistema de segurança composto por câmeras e sensores que possibilitam o acompanhamento remoto do equipamento em utilização.

A ideia de utilizar esse mesmo sistema de esterilização por UVC na hemodiálise é de grande importância devido a sua originalidade e potencial de exclusividade. Portanto, esse projeto, se comprovado e regulamentado, pode se tornar uma solução única e escalável a nível internacional para um problema de difícil controle e que aflige cerca de 2 milhões de pessoas todos os anos. Além disso, por se tratar de um sistema de desinfecção em um ambiente altamente controlado, esse mesmo sistema pode se tornar replicável para diferentes áreas que necessitem de purificação de água com menor ou igual rigorosidade, abrindo um leque gigantesco de oportunidades.

Estima-se que, cerca de 750 milhões de pessoas, no mundo, apresentem algum tipo de doença renal crônica, onde, embora a maioria de casos reportados sejam oriundos de países desenvolvidos, avalia-se que a maioria desses casos venha de países subdesenvolvidos com baixa qualidade no sistema de saúde e consequentemente baixa reportagem de casos (CREWS; BELLO; SAAD, 2019). Além disso, estima-se que 2 milhões de pessoas se submetem anualmente ao tratamento de hemodiálise, porém tal número remete a cerca de 10% da necessidade mundial, indicando um baixo alcance para grande parte da população (COUSER et. al., 2011). Além disso, esse tratamento pode ser oneroso do ponto de vista financeiro, onde, por exemplo, no Brasil, os custos com hemodiálise superam 2,5 bilhões de reais por ano. Outro exemplo, nos Estados Unidos, os gastos com doenças renais crônicas excedem o valor de 48 bilhões de dólares por ano (CREWS; BELLO; SAAD, 2019).

Segundo o Censo Brasileiro de Diálise (2018) (NEVES, 2020), aproximadamente 133 mil pessoas se submeteram ao processo de hemodiálise no Brasil em 2018 e esse número apresenta uma tendência de aumento linear de cerca de 5500 novos casos por ano. O estudo mostra uma alta taxa de mortalidade, onde 19,5% das pessoas vêm a óbito durante o tratamento, sendo estimado que a contaminação seja a segunda maior causa de mortes desses pacientes. Estima-se que no Brasil existam cerca de 1000 clínicas de hemodiálise e nos Estados Unidos cerca de 7000 clínicas, o que mostra um enorme potencial de venda por se tratar de um produto único que pode solucionar um problema crônico e com potencial de se tornar unanimidade no mercado.

8. Referências

ARGYRAKI, Aikaterini et al. UV light assisted antibiotics for eradication of in vitro biofilms. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.

BAK, Jimmy et al. Disinfection of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm contaminated tube lumens with ultraviolet C light emitting diodes. **Biofouling**, v. 26, n. 1, p. 31-38, 2010.

BOODAGHIANS, Razmik; LASSEGARD, Jeff; TRAM, Nguyen; ORTOLAN, Christina; CHAUHAN, Vikram; ***Inline UV LED water disinfection and heating***, US9376333B2, Jun, 28, 2016

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 11, de 13 de março de 2014**. Dispõe sobre os Requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os Serviços de Diálise e dá outras providências. Brasília: Ministério da Saúde, 13 mar. 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0011_13_03_2014.pdf. Acesso em: 20 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 154, de 15 de julho de 2004**. Estabelece o Regulamento Técnico para o funcionamento dos Serviços de Diálise. Brasília: Ministério da Saúde, 17 jun. 2004. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/rdc0154_15_06_2004_rep.html. Acesso em: 20 jul. 2022.

BURMEISTER, Jayme Eduardo; CAMPOS, Juliana Fernandes; MILTERSTEINER, Diego da Rosa. Effect of different levels of glucose in the dialysate on the risk of hypoglycaemia during hemodialysis in diabetic patients. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 34, n. 4, p. 323-327, 2012.

BINNS, Randold et al. Effect of ultraviolet radiation on *Candida albicans* biofilm on poly (methylmethacrylate) resin. **Journal of Prosthodontics**, v. 29, n. 8, p. 686-692, 2020.

CATALDO, Franco. Uridine as photochemical actinometer: application to LED-UV flow reactors. **European Chemical Bulletin**, v. 6, n. 9, p. 405-409, 2017.

CHARBONNEAU, Linda; POLAK, Maria Anna; PENLIDIS, Alexander. Mechanical properties of ETFE foils: Testing and modelling. **Construction and Building Materials**, v. 60, p. 63-72, 2014.

COULLIETTE, Angela D.; ARDUINO, Matthew J. Hemodialysis and water quality. In: **Seminars in dialysis**. 2013. p. 427-438.

COUSER, William G. et al. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. **Kidney international**, v. 80, n. 12, p. 1258-1270, 2011.

CREWS, Deidra C.; BELLO, Aminu K.; SAADI, Gamal. 2019 World Kidney Day Editorial-burden, access, and disparities in kidney disease. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 41, n. 1, p. 1-9, 2019.

ELASRI, Mohamed O.; MILLER, Robert V. Study of the response of a biofilm bacterial community to UV radiation. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 5, p. 2025-2031, 1999.

GALEZZO, María-Angélica; SUSA, Manuel Rodríguez. Effect of single and combined exposures to UV-C and UV-A LEDs on the inactivation of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in water disinfection. **Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development**, v. 11, n. 6, p. 1071-1082, 2021.

GORA, Stephanie L. et al. Inactivation of biofilm-bound *Pseudomonas aeruginosa* bacteria using UVC light emitting diodes (UVC LEDs). **Water research**, v. 151, p. 193-202, 2019.

GUPTA, Vineet; H YASSIN, Mohamed. Infection and hemodialysis access: an updated review. **Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)**, v. 13, n. 3, p. 196-205, 2013.

HOLMES, C. J. et al. Effectiveness of various chemical disinfectants versus cleaning combined with heat disinfection on *Pseudomonas* biofilm in hemodialysis machines. **Blood purification**, v. 22, n. 5, p. 461-468, 2004.

HTAY, Htay et al. Hemodialysis use and practice patterns: an international survey study. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 77, n. 3, p. 326-335. e1, 2021.

HU, Jianhui et al. Buildings with ETFE foils: A review on material properties, architectural performance and structural behavior. **Construction and Building Materials**, v. 131, p. 411-422, 2017.

HU, Jianhui et al. Uniaxial tensile mechanical properties and model parameters determination of ethylene tetrafluoroethylene (ETFE) foils. **Construction and Building Materials**, v. 75, p. 200-207, 2015.

ISAKOZAWA, Yutaka; MIGITA, Heihachi; TAKESAWA, Shingo. Efficacy of biofilm removal from hemodialysis piping. **Nephro-urology Monthly**, v. 8, n. 5, 2016.

KIM, Do-Kyun; KANG, Dong-Hyun. UVC LED irradiation effectively inactivates aerosolized viruses, bacteria, and fungi in a chamber-type air disinfection system. **Applied and environmental microbiology**, v. 84, n. 17, 2018.

LIU, Ruyin et al. Molecular analysis of long-term biofilm formation on PVC and cast iron surfaces in drinking water distribution system. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 4, p. 865-874, 2014.

LUO, Xueru et al. Advances in application of ultraviolet irradiation for biofilm control in water and wastewater infrastructure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 421, p. 126682, 2022.

MACKENZIE, Dana. Ultraviolet light fights new virus. **Engineering (Beijing, China)**, v. 6, n. 8, p. 851, 2020.

MALAYERI, Adel Haji et al. Fluence (UV dose) required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa, viruses and algae. **IUVA News**, v. 18, n. 3, p. 4-6, 2016.

MARION-FEREY, Karine et al. Biofilm removal from silicone tubing: an assessment of the efficacy of dialysis machine decontamination procedures using an in vitro model. **Journal of Hospital Infection**, v. 53, n. 1, p. 64-71, 2003.

MONTANARI, Lilian Bueno et al. Microbiological contamination of a hemodialysis center water distribution system. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 51, p. 37-43, 2009.

NERBASS, Fabiana B.; et al. Censo Brasileiro de Diálise 2020. **Brazilian Journal of Nephrology**, 2022, p. 349-357. Disponível em: https://www.bjnephrology.org/wp-content/uploads/articles_xml/2175-8239-jbn-2021-0198/2175-8239-jbn-2021-0198-pt.pdf. Acesso em: 22 ago. 2022.

NEVES, Precil Diego Miranda de Menezes et al. Censo Brasileiro de Diálise: análise de dados da década 2009-2018. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 42, n. 2, p. 191-200, 2020.

NOURMORADI, H. et al. Ultraviolet irradiation: An effective inactivation method of *Aspergillus* spp. in water for the control of waterborne nosocomial aspergillosis. **water research**, v. 46, n. 18, p. 5935-5940, 2012.

NOVOSAD, Shannon A. et al. Multicenter outbreak of gram-negative bloodstream infections in hemodialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 74, n. 5, p. 610-619, 2019.

OLIVEIRA, Lariane Teodoro et al. Fungal biofilms in the hemodialysis environment. **Microbial pathogenesis**, v. 123, p. 206-212, 2018.

PETTI, Allegra A. et al. Survival of starving yeast is correlated with oxidative stress response and nonrespiratory mitochondrial function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 45, p. E1089-E1098, 2011.

PIRES-GONÇALVES, R. H. et al. Occurrence of fungi in water used at a haemodialysis centre. **Letters in applied microbiology**, v. 46, n. 5, p. 542-547, 2008.

POHL, Johannes et al. Carbamazepine ozonation byproducts: toxicity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and chemical stability. **Environmental science & technology**, v. 54, n. 5, p. 2913-2921, 2020.

REED, Nicholas G. The history of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection. **Public health reports**, v. 125, n. 1, p. 15-27, 2010.

RENZEL, Dipl.-Ing Andreas. Disinfection with UVC. 2016.

ROBINSON-GAYLE, S. et al. ETFE foil cushions in roofs and atria. **Construction and Building Materials**, v. 15, n. 7, p. 323-327, 2001.

ROBISON, Martin L.; BUKHARI, Zia; TU, Yunjie; VENKATESH, Chandan; ***Disinfection of water mains using ultraviolet light and oxidizing agentes***, US20170174536A1, Dec, 07, 2021

SEIL, Justin T.; WEBSTER, Thomas J. Reduced *Staphylococcus aureus* proliferation and biofilm formation on zinc oxide nanoparticle PVC composite surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 6, p. 2579-2584, 2011.

SISTI, M. et al. Ultraviolet germicidal irradiation in tap water contaminated by *Aspergillus* spp. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 58, n. 4, p. E315, 2017.

SOUZA, Barbara A. et al. Fast removal of *Candida parapsilosis* from hemodialysis dialysate using ultraviolet or visible light at nanoporous W/WO₃ electrodes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 4, p. 103104, 2019.

UNITED STATES RENAL DATA SYSTEM [USRDS]. **USRDS Annual Data Report:** Epidemiology of kidney disease in the United States. Bethesda [Maryland]: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2019. Disponível em: <https://www.usrds.org/media/2371/2019-executive-summary.pdf>. Acesso em: 14 maio 2022.

VAL, Dra. Maria Luiza do. Qual o papel da hemodiálise em pediatria? 2º CONEP-MT, **Congresso de Nefrologia do Mato Grosso**, UNIFESP, Universidade Federal de São Paulo, 2019.
https://www.conepmt.com.br/palestras/4.%20Qual%20o%20lugar%20da%20hemodi%C3%A1lise%20em%20pediatria_%20Prof.%20Maria%20Luiza%20Daltro%20Moraes%20do%20Val.pdf

VERMA, Shiva et al. Bacteriological quality of treated water and dialysate in haemodialysis unit of a tertiary care hospital. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 9, n. 10, p. DC14, 2015.

WARD, Richard A. Avoiding toxicity from water-borne contaminants in hemodialysis: new challenges in an era of increased demand for water. **Advances in chronic kidney disease**, v. 18, n. 3, p. 207-213, 2011.

WIDEL, Maria et al. Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 68, p. 278-287, 2014.

WU, Qian-Yuan et al. Ammonia-mediated bromate inhibition during ozonation promotes the toxicity due to organic byproduct transformation. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 14, p. 8926-8937, 2020.

YUFENG, Gu; **Ultraviolet disinfection pipeline**, CN104045125A, Apr, 13, 2016.

ZACHEUS, Outi M. et al. Bacterial biofilm formation on polyvinyl chloride, polyethylene and stainless steel exposed to ozonated water. **Water Research**, v. 34, n. 1, p. 63-70, 2000.

ZHANG, Xin; ZHANG, Chen; YANG, Yifeng Dong; LEI, Cui He, ***Ozone and ultraviolet combined disinfection device for sewage pipeline***, CN111533242B, Mar, 19, 2021.