



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DE BANDA “C” SOBRE  
QUERATINÓCITOS HUMANOS E AVALIAÇÃO DE MATERIAIS COM  
POTENCIAL PROTETOR PARA A SAÚDE CUTÂNEA**

**JAMES HENRIQUE ALMEIDA**

**MACEIÓ - AL,  
2024**

**JAMES HENRIQUE ALMEIDA**

**EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA BANDA “C” SOBRE QUERATINÓCITOS  
HUMANOS E AVALIAÇÃO DE MATERIAIS COM POTENCIAL PROTETOR PARA  
A SAÚDE CUTÂNEA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Janylle Nunes de Souza Ferro

**MACEIÓ - AL,  
2024**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

A447e Almeida, James Henrique.

Efeito da radiação ultravioleta de banda "C" sobre queratinócitos humanos e avaliação de materiais com potencial protetor para a saúde cutânea / James Henrique Almeida. – 2024.

71 f. : il. color.

Orientadora: Janylle Nunes de Souza Ferro.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2024.

Bibliografia: f. 57-68.

Anexo: f. 69-71.

1. Radiação ultravioleta. 2. Danos celulares. 3. Radiação – Proteção. I. Título.

CDU: 551.521.17: 616.5-001.15

## **Folha de Aprovação**

JAMES HENRIQUE ALMEIDA

**EFEITO DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA DE BANDA “C” SOBRE  
QUERATINÓCITOS HUMANOS E AVALIAÇÃO DE MATERIAIS COM POTENCIAL  
PROTETOR PARA A SAÚDE CUTÂNEA**

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 27 de fevereiro de 2024.

### **Banca Examinadora**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Presidente – JAMYLLÉ NUNES DE SOUZA FERRO (ORIENTADORA)

Prof. Dr. – EMILIANO DE OLIVEIRA BARRETO – UFAL

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> – JULIANE CABRAL SILVA – UNCISAL

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), sob orientação da Profa. Dra. Janylle Nunes de Souza Ferro, e com financiamento do Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS) - Edital 06/2020 e apoio da profa. Dra. Juliane Cabral Silva (UNCISAL), professor Allisson Luiz Nascimento da Silva (IFAL) e professora Dra. Régia Caroline Fusco (UFTM).

Dedico esta dissertação à minha amada família, cujo apoio incondicional e crença em meu potencial foram fundamentais para minha jornada acadêmica. Em especial, gostaria de expressar minha mais profunda gratidão à minha mãe, Josefa, cujo amor inabalável e dedicação à minha educação me deram força e confiança para enfrentar os desafios durante toda minha jornada até aqui. Suas palavras de incentivo e encorajamento sempre estiveram presentes, iluminando o caminho mesmo nos momentos mais difíceis.

## AGRADECIMENTOS

Quero expressar minha profunda gratidão à minha família, que sempre esteve ao meu lado e me apoiou incondicionalmente. Em especial, quero agradecer à minha mãe, Jousy, que tem sido meu suporte emocional diário e cujo amor inabalável tem me dado força para enfrentar os desafios. Aos meus irmãos, filhos dela, em especial ao Jobson, que sempre esteve ao meu lado quando precisei e que, de muitas formas, tornou possível que eu chegasse até aqui.

Agradeço também à minha mãe, Helen, cujo carinho e apoio incondicional nunca falharam, mesmo à distância. Ao meu irmão Victor, por quem tenho um carinho gigante e é motivo de muito orgulho pelo ser humano que é.

Agradeço também ao Pedro, meu companheiro de vida, que esteve ao meu lado em todos os momentos, sejam eles de empolgação e felicidade ou de tristeza e desânimo. Seu apoio incondicional e a sua capacidade de me motivar foram essenciais para minha jornada acadêmica. Não poderia deixar de mencionar nossos queridos filhos de quatro patas, Mila, Monica, Chandler e Astolfo, cuja presença e amor incondicional trazem conforto e alegria a todos os dias.

Agradeço a todos os meus amigos, que sempre torceram por mim e que são essenciais para garantir minha sanidade mental, sempre proporcionando afeto, risadas, conselhos e parceria, em especial ao meu melhor amigo Thiago Henrique que também é meu primo, irmão de outra mãe e que sempre está disposto a ouvir minhas inquietações, anseios, fofocas e é meu parceiro de crimes. Ao Thiago Carvalho, Igor Walters, Pedro Cristiano, Mariana Tenório, Laise Pessoa e Anthero Rodrigues, que dividem comigo uma paixão e que estão comigo todos os sábados como meu grupo de dança. A Jéssica e a Cibelle que estão comigo desde a época da escola. A Andressa, Dayse, Dani, Shuggie e todos os demais que eu poderia colocar aqui, e fariam uma lista gigantesca.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Janylle Ferro, que me acolheu num momento de ruptura de ciclos na minha vida acadêmica. Sua dedicação e cuidado foram uma experiência reconfortante em meio às circunstâncias que estava vivenciando. Agradeço por todo o conhecimento, apoio e oportunidades que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal. Além disso, agradeço pela paciência e compreensão necessárias em todos os momentos durante essa jornada. Sou muito grato por ter uma orientadora tão inspiradora e incrível quanto

você.

Agradeço ao Laboratório de Biologia Celular (LBC) por proporcionar os recursos humanos e a infraestrutura necessária para a execução deste trabalho, permitindo o aprendizado técnico e científico de alta qualidade.

Agradeço a todos os professores do LBC, ao Dr. Alexandre Borbely, a Dra. Danielma Reis e ao Dr. Emiliano Barreto, por todos os conhecimentos e sugestões que proporcionaram em diversos momentos.

Agradeço à incrível técnica do LBC, Juliane Barreto, pelo suporte e apoio oferecidos, não só no aspecto técnico dessa caminhada, mas também por todas as conversas, trocas de ideias, conselhos e momentos de descontração que foram essenciais no ambiente de trabalho. Obrigado por ser como uma mãe que cuida de todos do laboratório! E também não posso deixar de mencionar os puxões de orelha que foram importantes para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a todos os integrantes do LBC por toda a parceria científica e pelos momentos de risadas que tornam o ambiente mais leve. Em especial, gostaria de agradecer à Luana e Cris, cuja conexão incrível comigo tornou a reta final do mestrado muito mais leve. Obrigado pelo suporte nos experimentos e pela dedicação de vocês! Agradeço também aos demais membros do grupo de pesquisa liderado pela chefe que possibilitaram a realização do projeto ao qual pertence esse trabalho: Everlaine, Fernanda e Jonata. Também sou muito grato aos demais membros do LBC: Alef (sou muito grato pela sua amizade, te admiro muito, e obrigado pela força durante aquele experimento em que saímos às 23h do laboratório), Ashley (obrigado pelos momentos de descontração e por ser minha parceira de rolês em SP), Erick, Isadora, Mark, Jordana (Obrigado pela ajuda essencial nos experimentos finais), Julianderson, Biazinha, Biazona, Vanessa, Felipe, Ana Flávia, Ana Lúcia, Camilla, Keyla, Rayane, Iasmin, Lays.

Agradeço a todas as instituições (Instituto Federal de Alagoas, UNCISAL, CESMAC e Universidade Federal do Triângulo Mineiro) e professores envolvidos no projeto que possibilitaram a execução deste trabalho, em especial a Prof<sup>ª</sup> Dra Juliane Cabral, que sempre demonstrou suporte e parceria em diversos momentos.

Agradeço também a minha banca de qualificação que foi essencial para aprimorar os resultados e a escrita do trabalho: Dr. Emiliano Barreto, Dra. Régia Fusco e a Dra. Jordana Rodrigues.

Agradeço a todos os membros da banca de defesa por dedicarem seu tempo

e expertise para avaliar minha defesa. Seus comentários e sugestões são extremamente valiosos para minha formação.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pelo financiamento da pesquisa e concessão da bolsa, permitindo a realização deste trabalho.

Por último, agradeço a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para que eu chegasse a esta conclusão tão significativa em minha jornada acadêmica,

## **NORMALIZAÇÃO**

Esta tese está de acordo com os requisitos das normas em vigor no momento desta publicação, segundo o Manual para normalização de trabalhos acadêmicos da UFAL: Helena Cristina Pimentel do Vale, Lívia Aparecida Ferreira Lenzi; Rafael Giardini Lenzi. Maceió: UFAL, 2022.

As referências bibliográficas estão de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), 2023.

O melhor modo de prever o futuro é criá-lo.

- Peter Drucker

## RESUMO

A radiação ultravioleta (UV) é um método estabelecido na literatura, inativando microrganismos ao danificar seus ácidos nucleicos. A exposição à radiação pode afetar não apenas o material intracelular do microrganismo, mas também um conjunto de células próprias de indivíduos expostos. Em resposta à pandemia de COVID-19 houve um aumento no uso de dispositivos de radiação UV-C. No entanto, o aumento da utilização desses dispositivos para a desinfecção de superfícies aumenta os riscos de exposição humana a essa radiação. Assim, é importante avaliar os efeitos dessa exposição em células humanas, como queratinócitos, para garantir a eficácia e a segurança do uso desses dispositivos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição à radiação UV-C (254 nm) sob uma linhagem de queratinócitos não tumorais humanos (HaCaT) em diferentes tempos de exposição e a proteção aferida por diferentes materiais. Para tal, os queratinócitos foram expostos por diferentes períodos de tempo (10, 60 ou 300s) à radiação UVC ( $\pm 16$  mW/cm<sup>2</sup>, 254 nm) e avaliados nos tempos de 1, 6, 24, ou 72 horas após a exposição, com ou sem a presença de materiais de proteção. Os parâmetros avaliados foram: a viabilidade celular, análises morfológicas por microscopia óptica em células coradas com cristal de violeta, marcação com corantes fluorescentes para avaliar morte celular por apoptose ou necrose (marcação com laranja de acridina e iodeto de propídio - LA/IP), ensaio de produção de espécies reativas de oxigênio e ensaio clonogênico. A exposição à radiação por 10 segundos resultou em danos progressivos que afetaram diversos parâmetros, como a viabilidade celular, com uma diminuição notável nas células viáveis nos diferentes intervalos de tempo avaliados. Além disso, foi possível observar alterações morfológicas e na densidade celular, bem como um aumento de células mortas, evidenciando características atípicas em comparação com as células não expostas. Também foi observado um aumento significativo na produção de espécies reativas, indicando um estresse oxidativo induzido pela radiação UV-C. Notavelmente, o uso de materiais de proteção, como o látex e o nitrilo, conferiram uma proteção significativa às células, mantendo sua viabilidade e morfologia semelhantes às do grupo não exposto. Esses resultados indicam os efeitos deletérios da radiação UV-C para as células, corroborando com a literatura, e sugerem que o uso de materiais de proteção pode ajudar a mitigar esses efeitos.

**Palavras-chave:** Radiação ultravioleta; Danos celulares; Proteção.

## ABSTRACT

Ultraviolet (UV) radiation is an established method in the literature, inactivating microorganisms by damaging their nucleic acids. Radiation exposure can affect not only the intracellular material of the microorganism but also a set of cells specific to exposed individuals. In response to the COVID-19 pandemic, there has been an increase in the use of UV-C radiation devices. However, the increased use of these devices for surface disinfection increases the risks of human exposure to this radiation. Thus, it is important to assess the effects of this exposure on human cells, such as keratinocytes, to ensure the effectiveness and safety of using these devices. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of exposure to UV-C radiation (254 nm) on a lineage of human non-tumoral keratinocytes (HaCaT) at different exposure times and the protection provided by different materials. To this end, keratinocytes were exposed for different periods (10, 60, or 300s) to UVC radiation ( $\pm 16$  mW/cm<sup>2</sup>, 254 nm) and evaluated at 1, 6, 24, or 72 hours after exposure, with or without the presence of protective materials. The parameters evaluated were: cell viability, morphological analysis by optical microscopy in cells stained with crystal violet, staining with fluorescent dyes to assess cell death by apoptosis or necrosis (acridine orange and propidium iodide staining - AO/PI), reactive oxygen species production assay, and clonogenic assay. Exposure to radiation for 10 seconds resulted in progressive damage affecting various parameters, such as cell viability, with a notable decrease in viable cells at the different time intervals evaluated. Additionally, morphological changes and cell density were observed, as well as an increase in dead cells, evidencing atypical characteristics compared to unexposed cells. A significant increase in reactive species production was also observed, indicating radiation-induced oxidative stress. Notably, the use of protective materials, such as latex and nitrile, conferred significant protection to the cells, maintaining their viability and morphology similar to that of the unexposed group. These results indicate the deleterious effects of UV-C radiation on cells, corroborating with the literature, and suggest that the use of protective materials may help mitigate these effects.

**Keywords:** Ultraviolet Radiation; Cell damage; Protection

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Óbitos globais (contagens) atribuíveis à resistência antimicrobiana de diferentes espécies de bactérias patogênicas.....	20
Figura 2 -	Penetração da radiação ultravioleta de origem natural na pele....	23
Figura 3 -	Composição da epiderme da pele humana.....	27
Figura 4 -	Estrutura da derme.....	28
Figura 5 -	Síntese da vitamina D.....	30
Figura 6 -	Luminária de radiação UV-C de baixo custo.....	31
Figura 7 -	Esquema de exposição das células à radiação UV-C.....	32
Figura 8 -	Diminuição da viabilidade celular causada pela exposição à radiação UV-C.....	36
Figura 9 -	Painel morfológico dos queratinócitos expostos e não expostos após coloração com cristal violeta.....	38
Figura 10 -	Painel da coloração com LA/IP dos queratinócitos expostos e não expostos.....	40
Figura 11 -	Contagem de células mortas presentes no ensaio de LA/IP.....	41
Figura 12 -	Fotografia do ensaio clonogênico e contagem de colônias.....	42
Figura 13 -	Produção de EROs na ausência ou presença da radiação.....	43
Figura 14 -	Gráfico de viabilidade celular dos queratinócitos expostos na presença e ausência do látex como barreira.....	44
Figura 15 -	Gráfico de viabilidade celular dos queratinócitos expostos na presença e ausência de diferentes materiais.....	45
Figura 16 -	Painel morfológico dos queratinócitos expostos por 300 segundos na presença e ausência de diferentes materiais.....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCRJ	Banco de Células do Rio de Janeiro
DCFH-DA	Diclorofluoresceína diacetato hidroximetil éster
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfósido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DO	Densidade óptica
EARS-Net	Rede Europeia de Vigilância de Resistência Antimicrobiana
EPIs	Equipamentos de proteção individual
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HaCaT	Queratinócitos da pele humana
IFAL	Instituto Federal de Alagoas
IL	Interleucina
IP	Iodeto de propídio
IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
LA	Laranja de acridina
MEC	Matriz extracelular
MTT	[3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio brometo]
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OH <sup>·</sup>	Radical hidroxila
RNA	Ácido ribonucleico
SBF	Soro bovino fetal
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UTI	Unidade terapia intensiva
UV	Ultravioleta
UV-A	Ultravioleta banda "A"
UV-B	Ultravioleta banda "B"
UV-C	Ultravioleta banda "C"

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>18</b>
3.1 Infecções hospitalares e desinfecção de superfícies e ambientes.....	18
3.2 Radiação Ultravioleta.....	21
3.3 A pele humana.....	25
3.4 Queratinócitos.....	28
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
4.1 Luminária e protocolo de exposição.....	31
4.2 Linhagem celular.....	33
4.3 Ensaio de viabilidade celular.....	33
4.4 Ensaio de morfologia.....	33
4.5 Ensaio de fluorescência para avaliação da morte celular.....	34
4.6 Ensaio clonogênico.....	34
4.7 Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs).....	35
4.8 Análise estatística.....	35
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
5.1 A exposição à radiação UV-C diminui significativamente a viabilidade celular dos queratinócitos.....	36
5.2 A densidade de células e suas características morfológicas são alteradas após a exposição à radiação.....	37
5.3 Avaliação da morte celular por marcação com os corantes laranja de acridina e iodeto de propídio.....	39
5.4 A ação da Radiação UV-C eliminou completamente os queratinócitos expostos após 14 dias da exposição.....	41
5.5 A radiação UV-C promove a geração de espécies reativas de oxigênio.....	42
5.6 O uso de materiais empregados na construção de EPIs mitiga os efeitos deletérios provocados às células.....	44
5.7 A presença de barreira de látex e nitrilo ameniza as alterações morfológicas das células expostas à radiação UV-C.....	45
5.8 O uso de alguns tipos de materiais reduzem a quantidade de células mortas em resposta à radiação UV-C.....	47
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Internações e mortes evitáveis ocorrem com frequência todos os anos em unidades de saúde, devido a infecções adquiridas nesses ambientes, principalmente em indivíduos que apresentam vulnerabilidade imunológica (Blot *et al.*, 2022). É possível observar em diversos estudos, a indicação de uma associação desse quadro com o uso de materiais e de ambientes contaminados, como cateteres, dispositivos intravasculares e instrumentos cirúrgicos, por exemplo (Dellinger, 2016; Boev; Kiss, 2017; Battaglia; Hale, 2019).

Tem sido relatado ainda que o número de infecções hospitalares também é agravado devido à contaminação de superfícies por patógenos como bactérias, fungos e vírus, que podem permanecer inertes nesses ambientes por dias ou semanas (Suman, *et al.*, 2020; Dire, *et al.* 2023; Zou, *et al.*, 2021), sendo responsáveis por disseminar a contaminação através dos profissionais de saúde, visitantes ou dos equipamentos utilizados no ambiente hospitalar (Weber; Anderson; Rutala, 2013; Rodrigues *et al.*, 2019).

Para minimizar tais contaminações em ambientes hospitalares, os métodos de desinfecção mais comuns incluem o uso de desinfetantes à base de cloro e polifenóis (Protano *et al.*, 2019). No entanto, os derivados do cloro podem danificar materiais como metais e alguns plásticos, como o policloreto de vinila e o polipropileno, enquanto que os polifenóis não possuem um espectro de ação tão amplo quanto os derivados do cloro (Protano *et al.*, 2019). Uma alternativa promissora para esta questão é a utilização da radiação ultravioleta (UV) para inativar microrganismos. Este método é conhecido por ser eficaz contra bactérias, vírus e protozoários, podendo ser aplicado em superfícies sólidas, na água e no ar (Hijnen; Beerendonk; Medema, 2006; Scott; Joshi; McGinn, 2022).

A radiação ultravioleta de banda C (UV-C) de onda curta apresenta espectro de 100 a 280 nanômetros (nm) de comprimento, e o seu uso para a inativação de vírus e bactérias é bem estabelecido na literatura, pois estas ondas são eficientemente absorvidas por bioaerossóis e danificam os ácidos desoxirribonucléico (DNA) e ribonucleico (RNA) desses microrganismos através da formação de dímeros de pirimidina, afetando os processos de reparo do material genético, e conseqüentemente os processos de proliferação celular (Ploydaeng; Rajatanavin; Rattanakaemakorn, 2021).

Diversos estudos já averiguaram a capacidade da radiação UV de comprimento de onda entre 210 e 254 nm na inativação de microrganismos numa taxa de até 99,9% (Clauss; Grotjohann, 2009; Beck *et al.*, 2014; Narita *et al.*, 2020; Buonanno *et al.*, 2020).

No entanto, apesar de tais efeitos antimicrobianos desejáveis, a radiação UV-C no comprimento de onda de 254 nm tem seus efeitos deletérios demonstrados em diferentes modelos experimentais na literatura, que induzem em modelos *in vitro* a morte celular de fibroblastos humanos não tumorais (AG1522), bem como a geração de lesões pré-mutagênicas em modelos 3D de tecido cutâneo (Buonanno *et al.*, 2013). Já em estudos *in vivo* essa radiação promove o espessamento da epiderme, aumento da proliferação celular, aumento de infiltrado inflamatório e geração de lesões pré-mutagênicas no DNA como: dímeros de pirimidina ciclobutano (DPC), fotoprodutos 6-4 de pirimidina-pirimidona (6-4-PP) (Buonanno *et al.*, 2016; Ponnaiya, 2018).

Devido ao surgimento da pandemia de COVID-19, a busca por equipamentos de desinfecção do ar e de superfícies por meio da radiação UV-C tem recebido grande atenção, e diversos produtos foram disponibilizados no mercado (Raeiszadeh; Adeli, 2020). Esses equipamentos são capazes de atuar como ferramentas eficazes na desinfecção de ambientes hospitalares, contribuindo diretamente para a redução do número de infecções relacionadas à contaminação cruzada, um desafio enfrentado especialmente pelos profissionais de saúde (Malateaux; Gamarra; Dib, 2020).

No entanto, embora esses equipamentos sejam altamente eficazes na desinfecção de ambientes, sua eficácia e segurança em relação aos usuários, especialmente em termos de exposição à radiação UV-C, são questões importantes que precisam ser consideradas. Profissionais de saúde e outros trabalhadores essenciais podem estar expostos a essa radiação durante o uso desses equipamentos, e compreender os efeitos da radiação UV-C sobre as células de regiões mais expostas, como a pele, é crucial para o estabelecimento de protocolos de utilização que garantam a segurança desses indivíduos.

Nesse sentido, a compreensão dos efeitos da radiação UV-C em queratinócitos humanos pode fornecer informações valiosas sobre os riscos potenciais da exposição à radiação UV-C e ajudar a desenvolver medidas de

proteção e prevenção de danos, como por exemplo, o uso de materiais que sirvam como barreiras protetoras frente a radiação.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da radiação UV-C emitida por uma luminária de baixo custo sobre queratinócitos da pele humana. Além disso, buscou-se verificar se os materiais utilizados na construção dos equipamentos de proteção individual (EPIs) comumente utilizados por profissionais na área da saúde são capazes de oferecer uma proteção eficaz contra a radiação UV-C.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos da exposição à radiação UV-C (254 nm) em queratinócitos humanos não tumorais (HaCaT) em diferentes tempos de exposição e verificar a eficácia de diferentes materiais componentes de equipamentos de proteção individual em fornecer proteção contra essa radiação.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Averiguar o efeito da radiação UV-C emitida pelo dispositivo de baixo custo produzido sobre a viabilidade das células HaCaT.
- Verificar o efeito da radiação UV-C emitida pelo dispositivo de baixo custo produzido sobre a morfologia e apoptose das células HaCaT.
- Avaliar se a exposição à radiação UV-C aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio.
- Analisar a eficácia da utilização de barreiras físicas compostas de materiais empregados na fabricação de EPIs na proteção celular contra danos causados pela radiação emitida pelo dispositivo.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Infecções hospitalares e desinfecção de superfícies e ambientes

O termo Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) ou infecções nosocomiais é utilizado para referir-se à infecções que pacientes adquirem enquanto recebem cuidados ou tratamento em uma instituição de saúde, como hospitais, clínicas, consultórios médicos, entre outros (OMS *et al.*, 2011). Essas infecções não estão relacionadas com a enfermidade que levou o paciente em busca ao atendimento, nem estão em processo de incubação desses microrganismos (Szabó *et al.*, 2022). Em muitos casos, essas infecções são associadas a procedimentos médicos, cirurgias, internações hospitalares ou outros cuidados de saúde, e podem resultar de exposição aos microrganismos hospitalares, uso inadequado de antimicrobianos, práticas de higiene inadequadas, entre outros fatores (Kollef *et al.*, 2021).

As IRAS acarretam várias consequências associadas ao aumento da morbidade e mortalidade, incluindo hospitalização prolongada, disfunções em múltiplos órgãos e, nos casos mais graves, o desenvolvimento de sepse, uma condição que pode evoluir rapidamente ao óbito (Kollef *et al.*, 2021). Além disso, a incidência dessas infecções também acarreta desafios financeiros, pois resulta em um aumento nas despesas, englobando gastos com medicamentos, procedimentos adicionais, internações prolongadas e outros cuidados necessários (Sullivan; Gupta; Cook, 2017).

Nesse sentido, as IRAS continuam a representar um desafio global para a saúde pública, afetando milhões de pacientes anualmente em diferentes regiões do mundo. O estudo de Cassini e colaboradores (2019), com base em dados do EARS-Net (Rede Europeia de Vigilância de Resistência Antimicrobiana), identificou um elevado número de casos e mortes associadas a IRAS na Europa, com a maioria dos casos ocorrendo em ambientes de cuidados de saúde. Isso evidencia a necessidade urgente de intervenções direcionadas em hospitais e instalações de saúde.

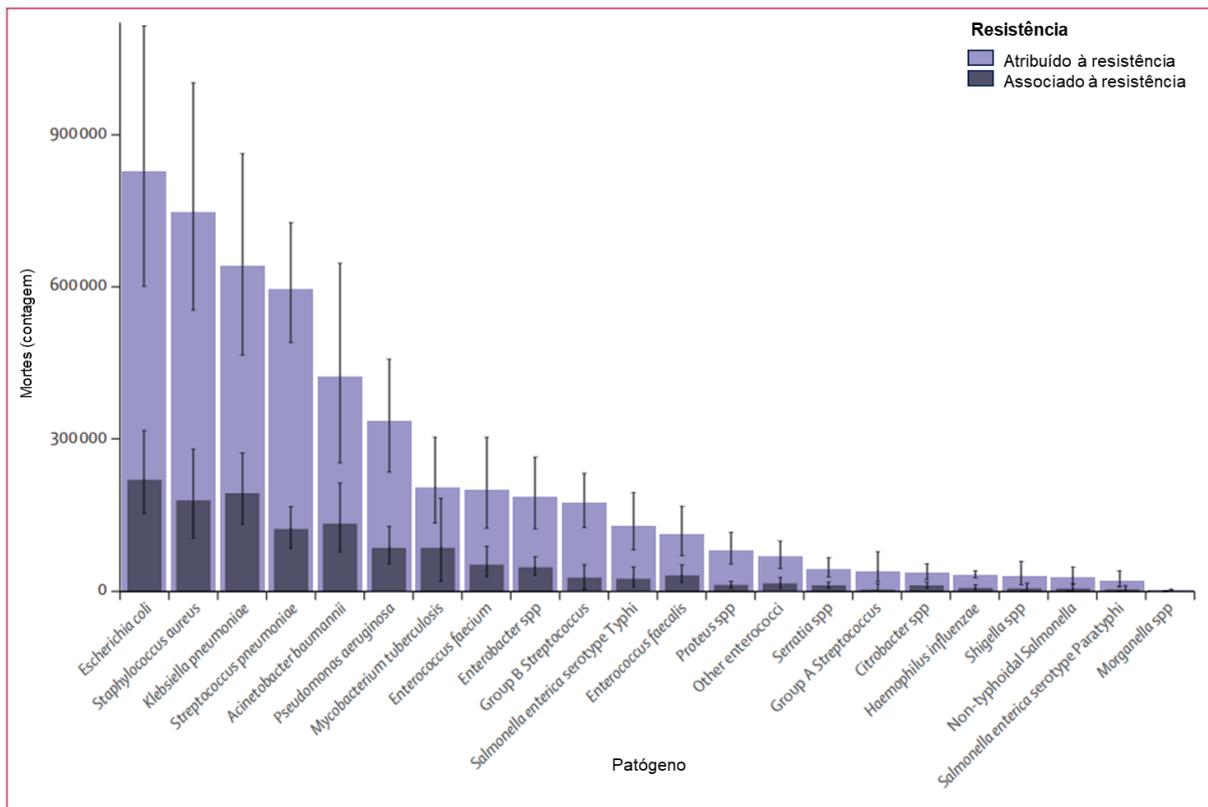
Nos Estados Unidos, o estudo de Magill e colaboradores (2018) revelou uma prevalência de IRAS entre pacientes hospitalizados, com uma proporção significativa

ocorrendo em unidades de cuidados intensivos e enfermarias. No entanto, dados sobre a prevalência de IRAS na América do Sul são escassos, embora estudos como o de Rosenthal e colaboradores (2021) tenham mostrado uma relação entre infecções sanguíneas e aumento da taxa de mortalidade. Um estudo mais amplo em quatro países da América do Sul encontrou uma prevalência média de 11,5% de IRAS, com a Venezuela apresentando a taxa mais alta (Huerta-Gutiérrez *et al.*, 2019). No Brasil, a ANVISA assumiu a responsabilidade pela prevenção e controle de IRAS desde 1999, destacando a importância da vigilância e intervenção contínua (ANVISA, 2021).

Considerando a falta de dados a nível nacional, é ainda mais difícil encontrar estudos que avaliem a epidemiologia das IRAS dentre as diferentes regiões do país de forma geral, ou mesmo mais específicas, como estados e cidades. Entretanto, um estudo realizado no estado de Alagoas por Lira e colaboradores (2022) evidenciou que, utilizando dados epidemiológicos provenientes do DATASUS, no período de 2017 a 2021, houve o registro de um total de 7626 pacientes que apresentaram quadro de sepse, e que desses 2.641 (34,63%) foram a óbito. Ainda que o estudo não faça discriminação entre pacientes que já buscaram atendimento médico devido às infecções, ou as adquiriram no ambiente hospitalar, o número de casos e mortes deve ser levado em consideração, e medidas para diminuir estes índices se fazem necessárias.

A complexidade das IRAS é acentuada pela diversidade de microrganismos envolvidos, apresentando desafios significativos tanto em escala global quanto no contexto específico do Brasil. O estudo de Murray e colaboradores (2019) analisou a carga global de resistência antimicrobiana bacteriana, revelando aproximadamente 4,95 milhões de mortes associadas à resistência em 2019. O estudo destacou as principais espécies de microrganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, e *Pseudomonas aeruginosa*) responsáveis por estas infecções, que podem ser observadas na figura 1 (p.20). Esse cenário destaca a urgente necessidade de decisões políticas informadas, incluindo programas de prevenção e controle de infecções, acesso a antibióticos essenciais e pesquisa de novas soluções para combater eficazmente a resistência antimicrobiana no cenário brasileiro e global.

**Figura 1** - Óbitos globais (contagens) atribuíveis à resistência antimicrobiana de diferentes espécies de bactérias patogênicas.



Adaptado de Murray e colaboradores, (2019).

Diante do sério problema das IRAs, a promoção da higiene nas unidades de saúde emerge como um pilar fundamental na prevenção dessas infecções, destacando a necessidade de adotar estratégias eficazes, tais como a implementação de protocolos rigorosos de higiene das mãos, desinfecção de superfícies, uso adequado de equipamentos de proteção individual e educação contínua (Septimus *et al.*, 2014). Vale destacar que a lavagem meticulosa das mãos é um procedimento vital, destacando-se como uma prática diária essencial para profissionais de saúde e visitantes, e deve seguir técnicas específicas durante esse procedimento para promover a remoção eficaz de patógenos, além de ajudar a reduzir a propagação de doenças (Lynch, 2020).

Para abordar efetivamente os vários fatores essenciais para otimizar a limpeza higiênica nos cuidados de saúde, é crucial integrar as intervenções de higiene das mãos e higiene do ambiente em um conjunto definido de atividades para prevenir IRAs (Carling, 2021). Portanto, é necessária uma abordagem integrada

composta por cinco componentes: criação de políticas e procedimentos baseados em evidências, seleção de produtos adequados para limpeza e desinfecção, educação da equipe, monitoramento de conformidade e implementação de tecnologia de descontaminação de salas "sem contato" direto com as superfícies (Rutala; Weber, 2019).

Dentre os principais métodos para desinfecção de superfícies, destaca-se o uso de desinfetantes químicos, incluindo derivados de cloro (Gallandat *et al.*, 2021). Os desinfetantes químicos são amplamente adotados devido à sua eficácia contra uma variedade de microrganismos, além de serem aplicáveis em diversas superfícies, todavia, algumas desvantagens incluem a possível toxicidade para humanos e animais, bem como o potencial dano a certos materiais, dependendo da concentração e do tempo de exposição (Assadian *et al.*, 2021).

Outra abordagem comum é o uso de derivados de cloro, como o hipoclorito de sódio, que apresenta ampla atividade antimicrobiana, sendo eficaz contra vírus, bactérias e fungos (Gallandat *et al.*, 2021). Apesar de sua acessibilidade, podem gerar odores fortes e causar corrosão em alguns materiais, além de apresentarem certa instabilidade quando armazenados de maneira inadequada, ou quando influenciados pela luz, o que pode interferir negativamente na sua eficácia na desinfecção dos ambientes (Rutala; Weber, 2019).

Assim, a radiação UV (Ultravioleta) é uma alternativa que não envolve o uso de produtos químicos e é um método eficaz na eliminação de diversos microrganismos, embora sua capacidade de penetração seja limitada e áreas ocultas possam não ser alcançadas (HQO *et al.*, 2018). No entanto, a radiação UV pode ser aplicada em diferentes superfícies e áreas através do uso de equipamentos específicos, e com um menor potencial de degradação de materiais, quando comparado a determinados agentes químicos, visto que esse método de limpeza não deixa resíduos (Diab-el Schahawi *et al.*, 2021).

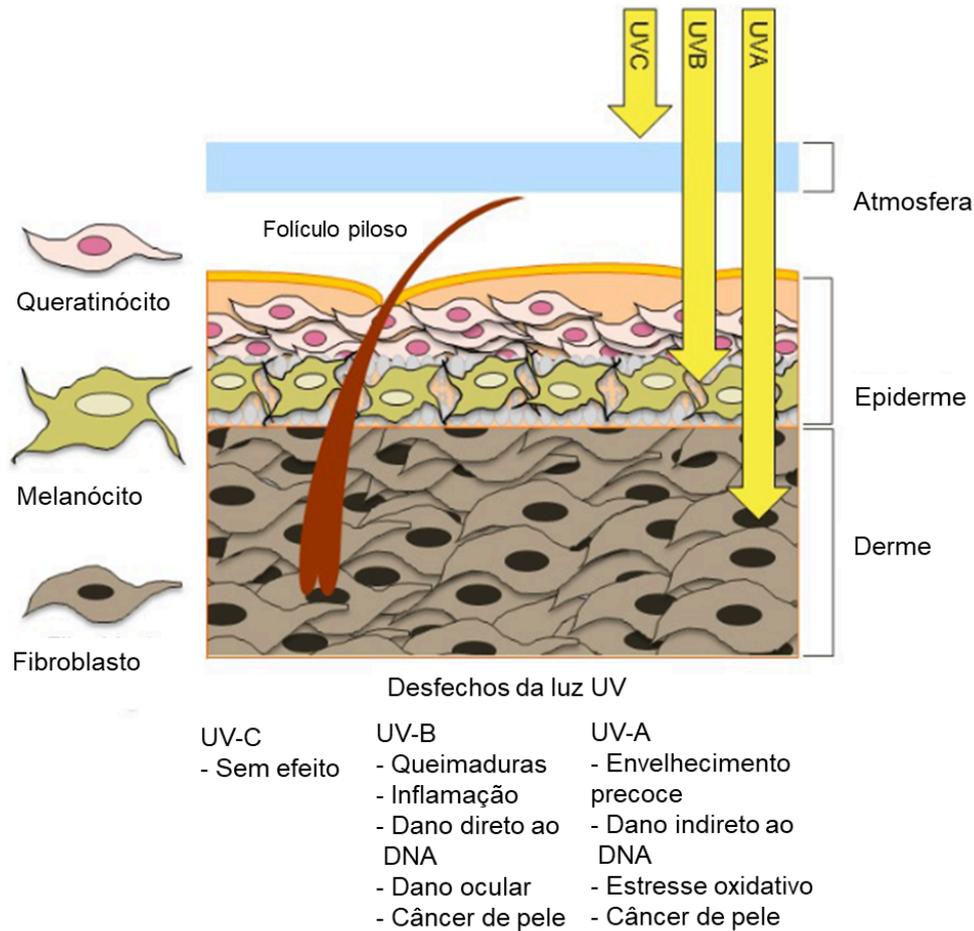
### **3.2 Radiação Ultravioleta**

A radiação ultravioleta (UV) está inserida no espectro eletromagnético juntamente com a luz visível, e a radiação infravermelha, sendo classificada em três bandas de acordo com o seu comprimento de onda: de banda A (UV-A, 320-400 nm), de banda B (UV-B, 290-320 nm) e de banda C (UV-C, 100-290 nm) (Gallagher,

2010; Ikehata; Ono, 2011). A radiação solar é a maior fonte de radiação UV, contudo, apenas os raios UV-A e UV-B são capazes de atravessar a atmosfera, chegando na superfície terrestre (Gallagher, 2010). Esse fato ocorre devido a absorção dos raios UV pelo ozônio ( $O_3$ ), oxigênio molecular ( $O_2$ ) e outras espécies atmosféricas menores, não sendo capazes de atingir o solo (Herman *et al.*, 2023). A radiação UV-A e UV-B também são absorvidas pela camada de ozônio, embora parcialmente, sendo a UV-A a menos absorvida, permitindo sua chegada na superfície do solo (Herman, *et al.*, 2023). Vale notar que mudanças na camada de ozônio podem influenciar os níveis de radiação UV que alcançam a superfície terrestre (Barnes *et al.*, 2019).

A exposição à radiação ultravioleta apresenta a capacidade de causar prejuízos à saúde humana, sendo responsável por causar inflamação através de queimaduras na pele, envelhecimento degenerativo, e aumentar o risco de desenvolvimento de neoplasias (D'orazio *et al.*, 2013; Laikova *et al.*, 2019; Salminen; Kaarniranta; Kauppinen, 2022). A radiação UV emitida pelo sol penetra na pele de acordo com o seu comprimento de onda (Figura 2, p. 23), dado que a radiação UV-A, que possui maior comprimento de onda, é capaz de penetrar mais profundamente, chegando até a derme, enquanto a radiação UV-B é absorvida quase que completamente pela epiderme (D'orazio *et al.*, 2013).

**Figura 2** - Penetração da radiação ultravioleta de origem natural na pele



Adaptado de D'orazio *et al.*, (2013).

A radiação UV-C emitida pelo sol é amplamente absorvida pela camada de ozônio, tornando-a menos comum na superfície terrestre, exceto nas regiões dos polos do planeta, onde se encontram camadas mais finas de ozônio devido a processos naturais, que nas últimas décadas foi agravado pela ação antrópica (Silvina *et al.*, 2022). No entanto, apesar de sua raridade natural, os seres humanos podem ser expostos à radiação UV-C devido a fontes artificiais, como lâmpadas germicidas (Sliney; Stuck, 2021).

Dentre os principais problemas causados pela exposição à radiação UV, um dos mais preocupantes é o dano causado pela absorção da radiação pelas moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), provocando danos a estas moléculas, principalmente através da formação de dímeros de pirimidinas, causando mutações que podem levar ao desenvolvimento de neoplasias (Markovitsi; Gustavsson; Banyasz, 2010; Huo *et al.*, 2022). Além da

formação de foto-dímeros no genoma, a radiação UV também é capaz de induzir a mutação através do aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), o que inclui o radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e o ânion superóxido ( $\text{O}_2^\cdot$ ), sendo capazes de oxidar bases de nucleotídeos, promovendo uma incompatibilidade das bases, levando então à mutagênese (Mohania *et al.*, 2017).

Esses efeitos prejudiciais não se limitam apenas às radiações UV-A e UV-B, às quais os seres humanos estão sujeitos devido à radiação solar, mas também se estendem à radiação UV-C, a qual é emitida por dispositivos artificiais (Hickerson *et al.*, 2021). Entretanto, apesar da exposição ser prejudicial para os seres humanos, o organismo apresenta sistemas de defesa contra os danos causados pela radiação UV, que vão desde a verificação e o reparo dos ácidos nucleicos no momento da replicação, até a promoção da apoptose de células que apresentem danos irreversíveis (Mohania *et al.*, 2017). No contexto da radiação UV-C, a absorção da radiação por pigmentos como a melanina, e outras proteínas, a espessura das camadas de células do tecido, bem como o tamanho maior dessas células humanas, quando comparadas às dos microrganismos, são características que tornam os humanos mais resistentes à exposição, dado que com exceção de microrganismos resistentes, eles apresentam pouco ou nenhum mecanismo de atenuação, fazendo com que bactérias e vírus, por exemplo, sejam completamente irradiados (Hessling *et al.*, 2021).

Devido aos efeitos danosos para os microorganismos, o uso da radiação UV-C é datado desde o ano de 1909, quando foi utilizado para desinfetar água potável em uma estação de tratamento em larga escala em Marseilles, França (Gray, 2013). Com o passar dos anos e o crescente desenvolvimento tecnológico, passou a ser utilizada para a desinfecção de ambientes, bem como para a esterilização de equipamentos, de água e de alimentos (Gray, 2013; Kim; Kang, 2020; Shen *et al.*, 2020). Desse modo, a radiação UV-C é um importante aliado no combate às crescentes infecções hospitalares cujas taxas de mortalidade e de morbidade em unidades de saúde aumentam anualmente (Napolitano; Mahapatra; Tang, 2015; Marasini *et al.*, 2021).

Neste cenário, com a emergência mundial em saúde provocada pela COVID-19, dispositivos contendo lâmpadas de UV-C ganharam espaço no mercado, em especial, para a utilização em unidades de saúde (Raeiszadeh; Adeli, 2020). Despertando o interesse de grupos de pesquisa em todo o mundo a trabalharem

para a construção e para a validação de dispositivos eficazes, de fácil operação e de custo acessível.

Desse modo, através de uma parceria entre pesquisadores da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL), Centro de Ensino Superior de Maceió (CESMAC), Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e a Universidade do Triângulo Mineiro (UFTM) foram construídos com materiais de reuso uma luminária portátil acoplada com uma lâmpada de radiação UV-C (254 nm), bem como um robô de radiação UV-C (254 nm) para serem utilizados com a finalidade desinfetar objetos, superfícies e ambientes.

Os dados obtidos com a execução do projeto intitulado "**VALIDAÇÃO DE ROBÔ E LUMINÁRIA PORTÁTIL ULTRAVIOLETA DE BAIXO CUSTO PARA CONTROLE DE MICRORGANISMOS EM AMBIENTES DE SAÚDE DE BAIXA, MÉDIA E ALTA COMPLEXIDADE**" (em fase de escrita dos manuscritos) confirmaram o adequado funcionamento do dispositivo de esterilização de baixo custo quanto a sua capacidade antimicrobiana. Para a realização dos ensaios microbiológicos, linhagens dos principais microrganismos responsáveis por causar IRAs (*Acinetobacter baumannii*; *Candida albicans*; *Klebsiela pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*) tanto no contexto global, quanto nacional foram selecionadas, para então passarem pelo processo de exposição à radiação UV-C emitida pela luminária portátil.

Os experimentos realizados revelaram resultados significativos, especialmente no que diz respeito à redução expressiva das unidades formadoras de colônias (UFCs) em diferentes linhagens de microrganismos. O período de exposição de apenas 10 segundos foi suficiente para produzir uma redução significativa de pelo menos 67,67% no crescimento dos microrganismos avaliados, enquanto que a partir do tempo de 60 segundos, foi observada uma diminuição de 100% das UFCs. Esses resultados embasam a escolha do tempo mínimo de exposição (10 s) nos ensaios realizados neste trabalho, e poderão ser esclarecedores quanto a cenários de possíveis exposições acidentais.

### **3.3 A pele humana**

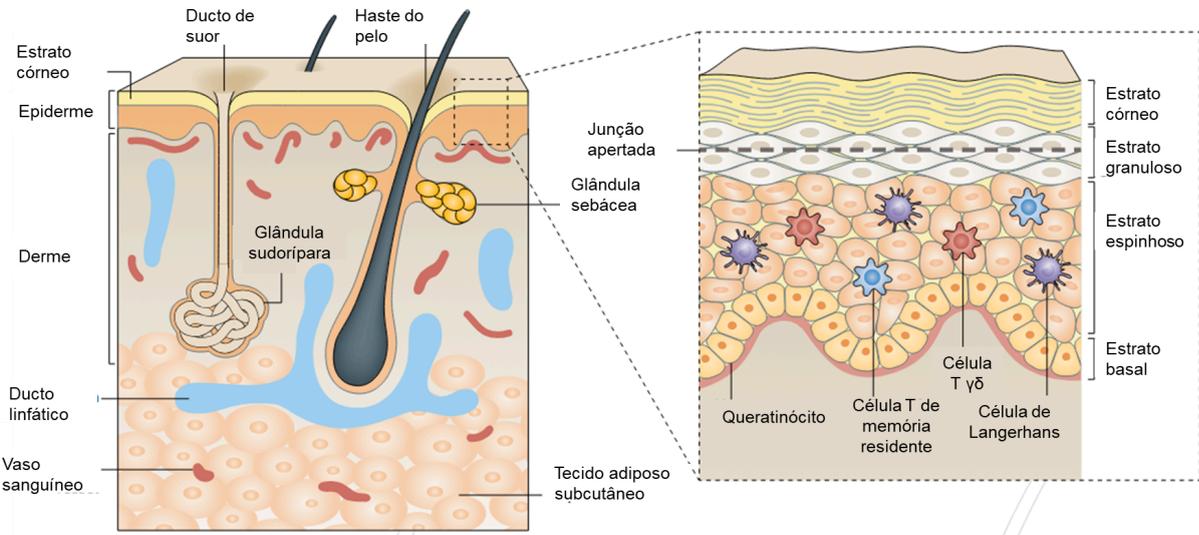
O maior órgão presente na espécie humana é a pele (Lai-cheong; McGrath, 2017). Ela é responsável por constituir a interface entre o organismo e o ambiente

externo, sendo muito importante em diversas funções, como na percepção de estímulos, na regulação da temperatura, em funções endócrinas e exócrinas e, ainda, por apresentar a capacidade de absorção e de secreção de substâncias (Kondo; Ishida, 2010; Mansfield; Naik, 2020). Outras funções importantes estão relacionadas à sua capacidade de servir como uma barreira, caracterizada pela sua permeabilidade seletiva, pela proteção contra microrganismos invasores, pela defesa contra traumas mecânicos, químicos e danos causados pela luz ultravioleta (Yousef; Alhajj; Sharma, 2017).

É composta por duas camadas primárias chamadas de epiderme e derme, que juntas são compostas por componentes epiteliais, mesenquimais, glandulares e neurovasculares (D'orazio *et al.*, 2013). A epiderme, a camada mais externa da pele, é caracterizada por quatro (pele delgada) ou cinco (pele espessa) camadas funcionais distintas, amplamente definidas pelas características dos queratinócitos (Jiang *et al.*, 2020). Essas características incluem tamanho, forma, nucleação e expressão de queratina tipo I e/ou II (Polarl *et al.*, 2020). As camadas incluem o estrato basal (ou camada de células basais), o estrato espinhoso (ou camada de células espinhosas ou escamosas), o estrato granuloso (ou camada de células granulares) e o estrato córneo (ou camada cornificada, também conhecida como camada de células córneas) (Fuchs; Raghavan, 2002; Kabashima *et al.*, 2019; Jiang *et al.*, 2020). A epiderme é composta por 4 tipos celulares: melanócitos, células de Merkel, células de Langerhans e queratinócitos (Moreci; Lechler, 2020). Esta última, é a célula presente em maior quantidade, representando cerca de 95% do total de células da epiderme (Lai-cheong; McGrath, 2017),

Os queratinócitos são células epiteliais caracterizadas pela expressão de citoqueratina e pela presença de desmossomas e junções oclusivas, características que permitem a pele ser uma barreira físico-química tão eficiente (D'orazio *et al.*, 2013; JIANG *et al.*, 2020) (Figura 3, p. 27). Os desmossomas promovem a adesão celular, mantendo os queratinócitos unidos, enquanto as junções apertadas minimizam a passagem de substâncias indesejadas através do espaço intercelular (Moreci; Lechler, 2020). Essa complexa rede de interações celulares destaca a importância dos queratinócitos na manutenção da homeostase da pele e na defesa contra agentes externos prejudiciais (Polari *et al.*, 2020).

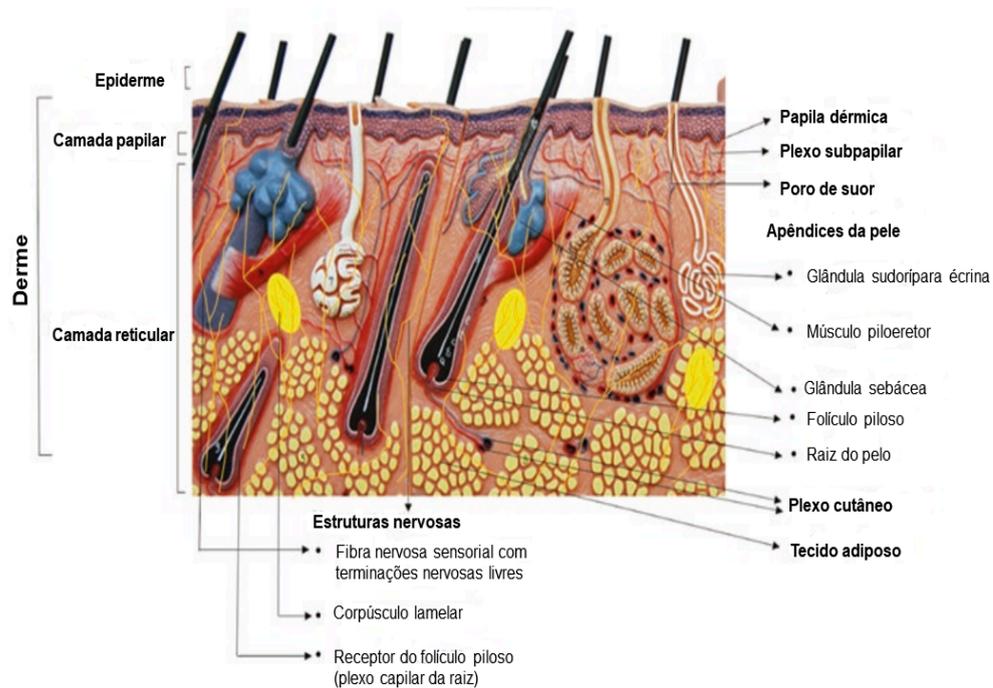
**Figura 3 – Composição da epiderme da pele humana.**



(Adaptado de Kabashima *et al.*, 2019).

Já a derme é composta por duas camadas de tecido conjuntivo (Figura 4, p. 28), chamadas de derme papilar e derme reticular, que se fundem sem demarcação clara, e fica separada da epiderme pela presença da lâmina basal, onde a camada mais interna (camada basal) de células ficam ancoradas (Yousef; Alhadj; Sharma, 2017). A derme papilar é a camada superior, mais fina, composta por tecido conjuntivo frouxo vascularizado ficando em contato com a epiderme, enquanto a derme reticular é a camada mais profunda, mais espessa, menos celular, e consiste em tecido conjuntivo denso não modelado, apresentando abundância de feixes de fibras colágenas, elásticas dispersas em outras moléculas de matriz extracelular (MEC) e abrigando os anexos da pele e outras estruturas necessárias ao funcionamento da pele, como as glândulas, pêlos, folículos pilosos, músculos, nervos, corpúsculos sensoriais e vasos sanguíneos (Figura 4, p. 30) (Yousef; Alhadj; Sharma, 2017; Yadav *et al.*, 2019).

**Figura 4 - Estrutura da derme.**



Adaptado de Yadav (2019).

Ambas as camadas colaboram na criação de uma estrutura matricial altamente especializada. A presença da lâmina basal atua como uma barreira física que separa essas duas componentes, ao mesmo tempo que oferece uma interface organizada e dinâmica para facilitar suas interações (Baroni *et al.*, 2012; Mansfield; Naik, 2020).

### 3.4 Queratinócitos

Os queratinócitos são células epiteliais especializadas que desempenham um papel vital na constituição da epiderme, sendo responsáveis pela formação da barreira protetora que reveste o nosso corpo, contribuindo assim para a integridade da pele (Gonzales; Fuchs, 2017). Essas células apresentam uma notável capacidade de renovação celular, dividindo-se constantemente a partir da camada basal da epiderme e migrando para as camadas superiores à medida que se diferenciam, perdendo seus núcleos e acumulando queratina, uma proteína

resistente que confere força e impermeabilidade à pele (Gonzales; Fuchs, 2017; Liarte; Bernabé-García; Nicolás, 2020).

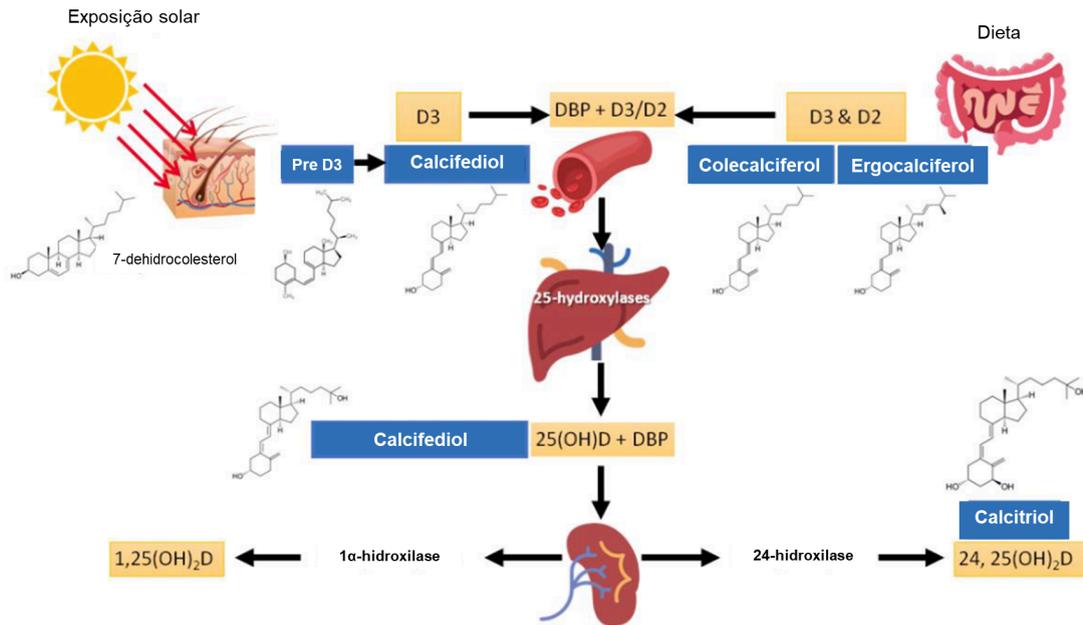
Por constituírem essa barreira natural, os queratinócitos representam a primeira linha de defesa do organismo (Piipponen; Li; Landén, 2020). Atuam não apenas como uma barreira física, mas também possuem a capacidade de interagir com células do sistema imune, desempenhando um papel fundamental na imunidade cutânea, sendo capazes de identificar padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), através de receptores de reconhecimento de padrões presentes em sua membrana celular (Piipponen; Li; Landén, 2020).

Além disso, os queratinócitos desempenham o papel de produzir citocinas e quimiocinas que contribuem para uma resposta imune cutânea eficaz (Kabashima *et al.*, 2019). Estas moléculas sinalizadoras possuem a capacidade de iniciar respostas imunes, promover a inflamação, regular a proliferação e diferenciação celular, e influenciar o recrutamento de células do sistema imune (Jiang *et al.*, 2020). O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e diversos tipos de interleucinas como a interleucina-1- $\alpha$  (IL-1- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8), por exemplo, são produzidas pelos queratinócitos e estão envolvidas em resposta a estímulos como lesões e infecções (Hänel; *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2020).

Outro papel crucial exercido pelos queratinócitos está na síntese de vitamina D, pois estes possuem a maquinaria enzimática necessária, sendo um processo complexo e dependente da ativação da provitamina D3 (7-deidrocolesterol) pela radiação UV-B (Bergqvist; Ezzedine, 2019; Dominguez, 2021).

Para que ocorra a produção da vitamina D, os queratinócitos presentes na camada mais externa da epiderme, quando expostos à radiação UV-B da luz solar, iniciam uma reação fotoquímica que converte o 7-deidrocolesterol em pré-vitamina D3 (Al-Zohily *et al.*, 2020). Essa pré-vitamina D3, lipossolúvel, atravessa as membranas celulares e entra na circulação sanguínea e em seguida, no fígado, passa por uma hidroxilação, transformando-se em 25-hidroxivitamina D3, também chamada de calcifediol (Al-Zohily *et al.*, 2020; Dominguez, 2021). Por fim, nos rins, ocorre uma segunda hidroxilação, resultando na forma ativa da vitamina D, o calcitriol, que atua como um hormônio, desempenhando funções cruciais na regulação dos níveis de cálcio e fósforo no sangue, facilitando a absorção desses minerais no intestino e promovendo a mineralização dos ossos (Figura 5, p. 30) (Dominguez, 2021).

**Figura 5 – Síntese da vitamina D.**



Adaptado de Dominguez (2021). Siglas se referem à: (D3) colecalciferol, (D2) ergocalciferol, (DPB) sigla do inglês *D protein binding* "proteína de ligação à vitamina D", (25(OH)D) Calcifediol, (1,25(OH)<sub>2</sub>D) calcitriol.

Desse modo, a escolha de uma linhagem específica de queratinócitos é bastante adequada para a execução deste trabalho, devido à sua presença amplamente difundida na complexa arquitetura cutânea. Essas células, sendo os principais constituintes da epiderme, não apenas compõem uma barreira física essencial, mas também desempenham um papel relevante na resposta do organismo a estímulos ambientais, como os provenientes do dispositivo de radiação UV-C. Portanto, a escolha dos queratinócitos se faz essencial para entender melhor os efeitos da radiação UV-C sobre este tipo celular.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Luminária e protocolo de exposição

O dispositivo portátil de emissão de radiação (luminária) foi construído com materiais recicláveis por pesquisadores do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), com o objetivo de utilizá-lo para a desinfecção de superfícies e objetos, que são utilizados em ambientes que apresentam risco de causar infecções por microrganismos, como em unidades de saúde (Figura 6). O protótipo de baixo custo teve a patente depositada (BR10202300826-8) e usado em colaboração neste projeto. A luminária possui duas lâmpadas de radiação UV-C de 254 nm, e apresenta a potência de  $\pm 16$  mW/cm<sup>2</sup> quando posicionada a uma distância de 2 cm do alvo a ser irradiado. Este valor foi obtido através de um medidor de radiância, que indicou uma estabilidade por até 10 minutos na potência após a luminária ficar ligada por 1'50", ser desligada por 15' e ligada novamente para uso.

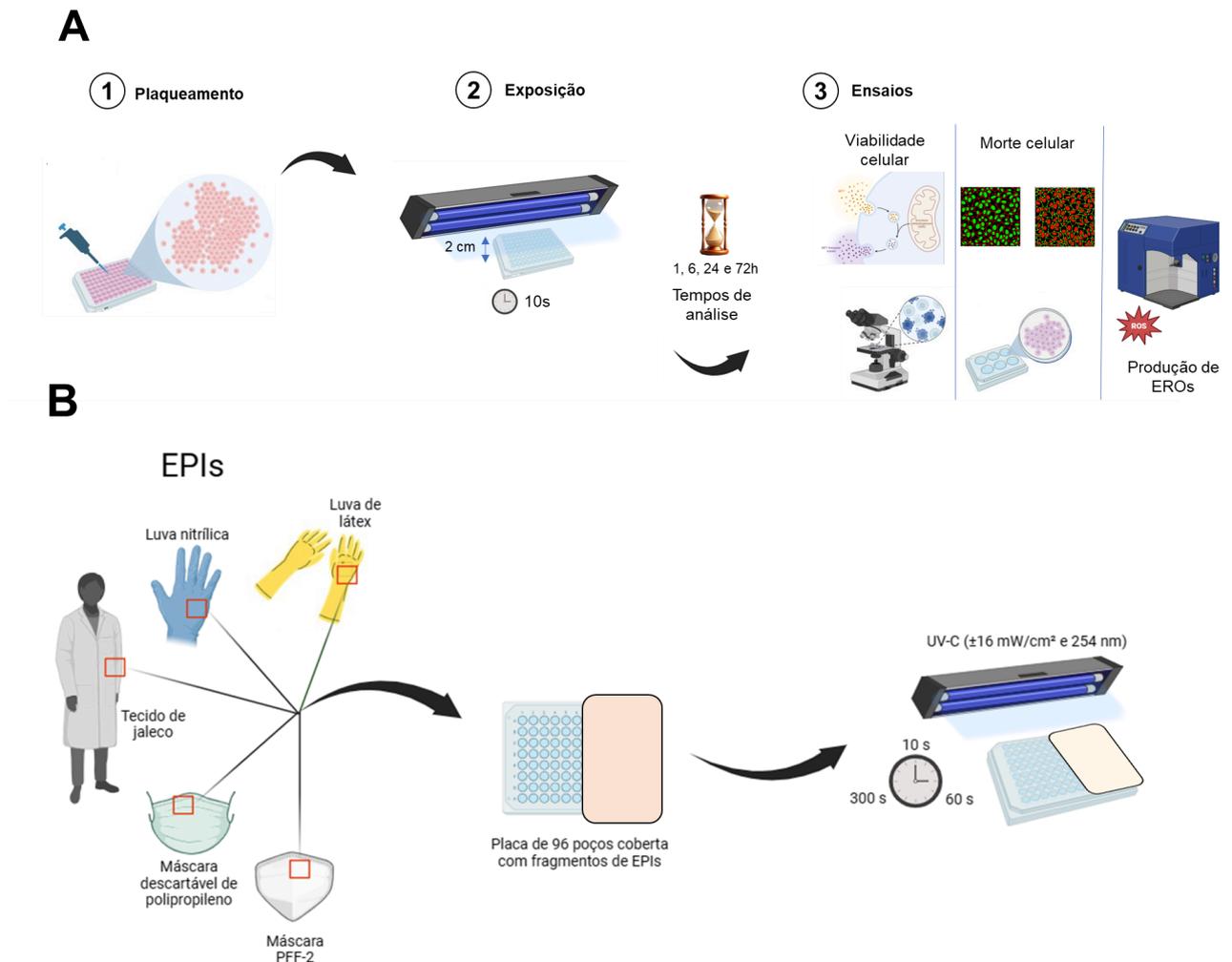
**Figura 6** - Luminária de radiação UV-C de baixo custo.



Para a exposição à radiação, seguiu-se com dois conjuntos de ensaios. No primeiro momento, as células aderidas em placas de 96, 24 ou 6 poços tiveram seu meio de cultura removido, e foram irradiadas a uma distância de 2 cm em relação à face do dispositivo, como pode ser visto na figura 7A (p. 32). Após a exposição pelo tempo de 10 segundos a uma distância de 2 cm da lâmpada, as células foram incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> a 5% e 37°C, e nos tempos de 1, 6, 24 ou 72 horas após a exposição, diferentes análises foram realizadas.

No segundo conjunto de ensaios, as células foram plaqueadas, e após a adesão, tiveram o meio de cultura removido e foram protegidas com os seguintes materiais: látex (luva de borracha), nitrila (luva), polipropileno (máscara descartável camada tripla), polipropileno (máscara pff2), tecido Oxford (70% algodão - 30% poliéster), dupla camada de tecido (Oxford + Brim, sendo o Brim 100% algodão), e poliestireno colocadas sob a placa de cultivo celular, para posterior exposição à radiação por 10, 60 ou 300 segundos. Passadas 72 horas após a exposição, diferentes análises foram realizadas (Figura 7B). Estes materiais foram escolhidos devido à sua utilização na produção de equipamentos de proteção individual (EPIs).

**Figura 7 -** Esquema de exposição das células à radiação UV-C.



Procedimento de exposição das células por 10s e seus tempos de avaliação após exposição (A). Procedimento de exposição das células por diferentes tempos de exposição, com análise após 72h (B).

## 4.2 Linhagem celular

A linhagem de queratinócitos não tumorais de pele humana (HaCaT) adquirida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) foi utilizada para a realização dos experimentos presentes neste estudo. As células foram cultivadas em meio *Dulbecco's modified eagle Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) (Gibco®), 2mM de L-glutamina (Sigma®) e 0,5 UI/mL de penicilina/estreptomicina (Gibco®), mantidas em condições estéreis em estufa de CO<sub>2</sub> a 5% e 37°C, de acordo com as instruções do fornecedor.

## 4.3 Ensaio de viabilidade celular

O efeito da radiação UV-C sobre os queratinócitos da pele humana foi investigado por meio do método de avaliação da viabilidade celular utilizando o ensaio MTT [3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide] (Sigma®) (Mosman, 1983). As células HaCaT foram distribuídas em placas de 96 poços na densidade de 10<sup>4</sup> células/poço. Após a adesão por cerca de 20 h, as células foram expostas, e mantidas à 37 °C, em estufa de CO<sub>2</sub>. Após os tempos de análises (1, 6, 24 e 72 h), o MTT (5 mg/mL) foi adicionado nos poços, e decorrido o tempo de 3 h, foi descartado o sobrenadante e adicionado 150 µL/poço de dimetilsulfóxido (DMSO). A densidade óptica (DO) foi lida através de um espectrofotômetro (Celer/Polaris®) a 540 nm, e analisada, gerando o cálculo da viabilidade celular através da fórmula abaixo:

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = \frac{\text{DO CÉLULAS NÃO EXPOSTAS}}{\text{DO CÉLULAS EXPOSTAS}} \times 100$$

## 4.4 Ensaio de morfologia

Para avaliar alterações morfológicas ocasionadas pela exposição à radiação, os queratinócitos foram distribuídos em placas de 24 poços na densidade de 3,5.10<sup>6</sup> células/poço. Após o período de adesão, as células do grupo exposto foram expostas de acordo com o protocolo anteriormente citado, e após os tempos de análise, foram retiradas fotomicrografias das células em duas condições: sem corante e após fixação com álcool metílico (Dinâmica®) a -4°C, com o corante cristal

violeta 2 mg/mL (Dinâmica®). Foram observadas características celulares como a condensação do núcleo, integridade da membrana citoplasmática, e alterações no tamanho e densidade das células.

#### **4.5 Ensaio de fluorescência para avaliação da morte celular**

O efeito da radiação UV-C sobre a indução da morte celular das células HaCaT foi realizado através do ensaio de fluorescência por marcação com laranja de acridina (LA) e Iodeto de propídio (IP). As células ( $3,5 \cdot 10^4$ ) foram semeadas em lamínulas de vidro depositadas em placas de 24 poços e mantidas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por cerca de 20 h. Após o período de adesão, as células foram expostas à radiação UVC, e os tempos de 1, 6, 24 e 72 h foram analisados. Após passado o tempo de análise, foi descartado o sobrenadante, e os poços foram lavados com PBS (*phosphate buffered saline*, pH 7,4), para então ser adicionada uma solução de LA (1 µg/mL) e IP (1 µg/mL) diluídos em PBS. Essa coloração permitiu distinguir as células vivas, que se coraram em verde, das células mortas, que apresentaram coloração alaranjada/vermelha (Makeen *et al.*, 2021). Após 2 minutos, as lamínulas foram retiradas dos poços e realocadas em lâminas de vidro para a leitura em microscópio de fluorescência. Foram retiradas microfotografias que permitiram a posterior contagem das células, e a geração de um gráfico indicando a porcentagem de células mortas através da fórmula:  $n^\circ \text{ de células mortas} \times 100 / n^\circ \text{ de células contadas}$  (50, quando possível). Além disso, também foram avaliadas a densidade de células, e alterações na morfologia celular.

#### **4.6 Ensaio clonogênico**

Células HaCaT (400 células/poço) foram cultivadas em placas de 6 poços com DMEM a 5% de SBF por 16-20 horas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> para adesão. O meio foi removido para exposição à radiação UV-C por 10s, seguido por reposição do meio sob a mesma suplementação. As células foram mantidas por 14 dias, com trocas de meio a cada 3 dias. Após fixação com metanol, as colônias (>50 células) foram coradas com cristal violeta (2 mg/mL) (Adaptado de Chang *et al.*, 2019). A análise do ensaio foi realizada através da contagem das colônias que apresentavam pelo menos 50 células.

#### **4.7 Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs)**

O efeito da radiação UV-C sobre a produção de EROs foi realizado através do ensaio de citometria de fluxo através da marcação com a sonda fluorescente diclorofluoresceína diacetato hidroximetil éster (DCFH-DA). As células ( $3,5 \cdot 10^4$ ) foram semeadas em placas de 24 poços e mantidas a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por cerca de 20 h. Após o período de adesão, as células foram expostas à radiação UVC por 10s e os tempos de 0, 30 e 60 minutos após exposição foram analisados. Após passado o tempo de análise, foi descartado o sobrenadante, para então serem adicionados 150 µL de solução de PBS + DCFH-DA (10 µM) por 30 minutos. Após o período de incubação, foi retirado o sobrenadante, e foi então adicionada a solução de tripsina por 10 minutos. Após o desprender das células, adicionou-se 150 µL de solução PBS/SBF para a neutralização da tripsina, e então foi realizada a leitura no citômetro (FACScanto II, BD™).

#### **4.8 Análise estatística**

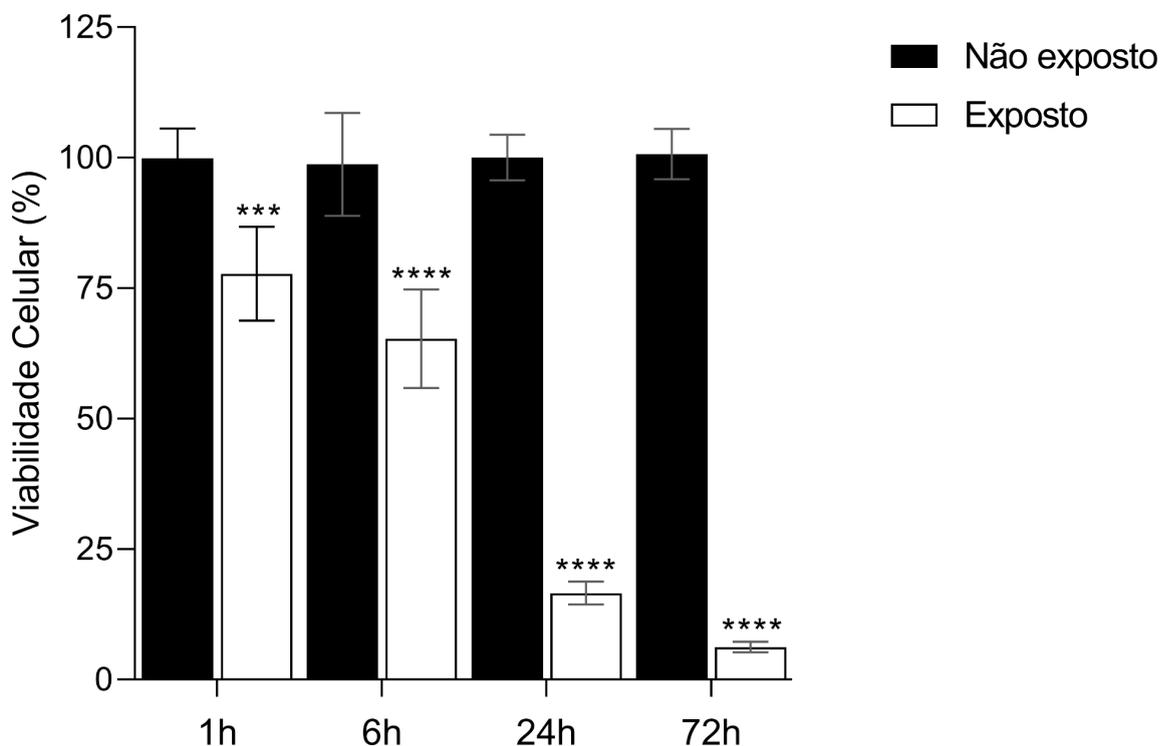
Os dados obtidos tiveram sua análise estatística realizada através da utilização do programa GraphPad Prism® (versão 8.0, GraphPad Prism Software, Inc.) Os experimentos foram realizados em triplicata e analisados estatisticamente, empregando-se a análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida de pós-teste de Tukey ou Bonferroni. Os resultados foram considerados significantes quando  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 A exposição à radiação UV-C diminui significativamente a viabilidade celular dos queratinócitos

A análise da viabilidade celular após a exposição dos queratinócitos à radiação UV-C a uma potência de  $16,8 \text{ mJ/cm}^2$ , durante um período de 10 segundos, demonstrou a diminuição na capacidade de sobrevivência das células. Essa redução na viabilidade celular demonstrou ser progressiva ao longo dos períodos de análise subsequentes conforme ilustrado na figura 8. Após os intervalos de tempo de 1, 6, 24 e 72 horas subsequentes à exposição, observou-se a redução na porcentagem de células viáveis em 22,3%, 34,7%, 83,5% e 93,66%, respectivamente, em comparação com as células não expostas.

**Figura 8** – Diminuição da viabilidade celular causada pela exposição à radiação UV-C.

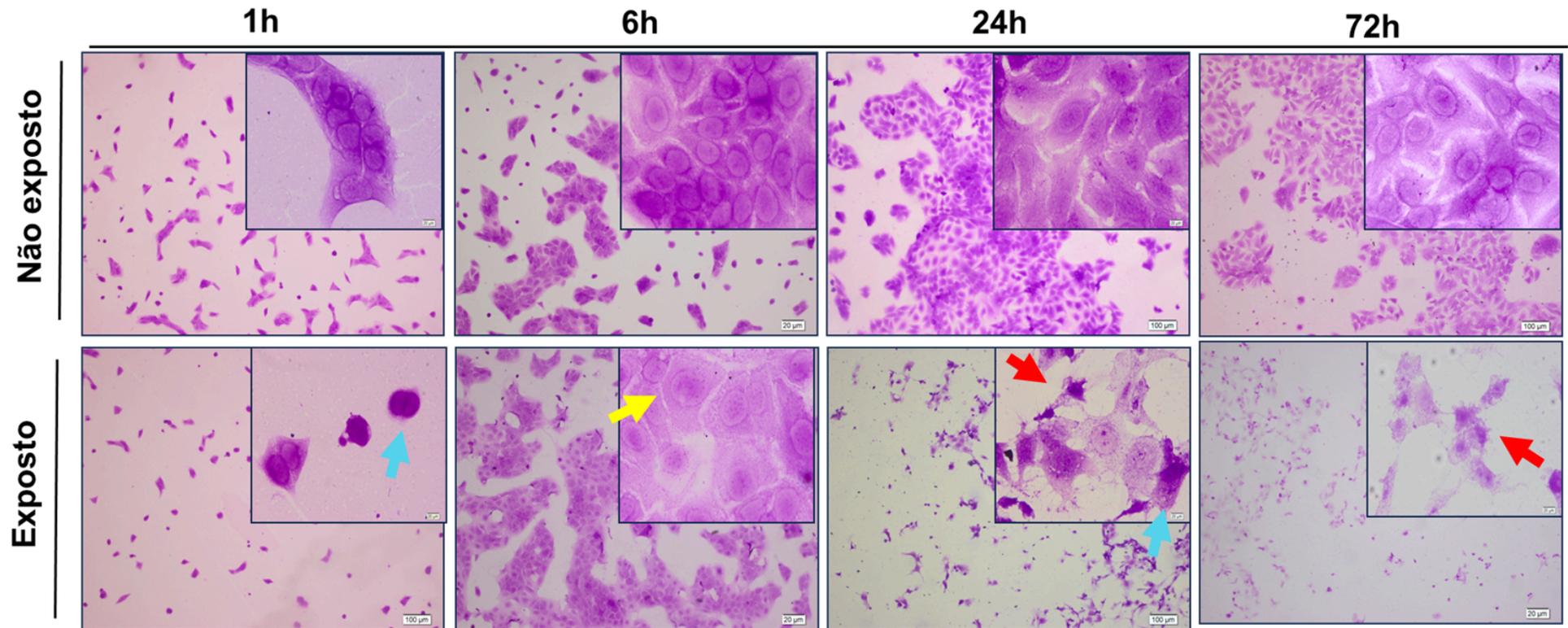


Viabilidade celular de queratinócitos após a exposição à radiação UV-C pelo ensaio de MTT. Os dados foram expressos como  $M \pm EPM$ , e os dados foram analisados estatisticamente usando ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Bonferroni, com o software GraphPad Prism versão 8.0. \*\*\* $p < 0,001$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo de células não expostas.

## **5.2 A densidade de células e suas características morfológicas são alteradas após a exposição à radiação.**

Outro efeito notável resultante da exposição à radiação UV-C foi a diminuição na densidade populacional de queratinócitos e alterações morfológicas, como pode ser observado na Figura 9 (p. 38). Durante o período de análise subsequente à exposição, foi possível verificar mudanças marcantes em termos de morfologia celular. Estas mudanças morfológicas incluíram a condensação do material genético nuclear, que se traduziu em núcleos mais densos e compactos, alterações no tamanho e formato das células e a presença de membranas celulares fragmentadas e restos celulares. Os efeitos nocivos tornaram-se mais acentuados à medida que o tempo progredia, culminando em uma notável redução na quantidade de queratinócitos presentes na placa de cultivo celular. Em análises realizadas após um período mais longo, ou seja, 72 horas após a exposição inicial, além da uma diminuição significativa do número de células presentes no poço, as células remanescentes exibiram características morfológicas atípicas e indicativas de morte celular (perda da integridade da membrana celular, presença de corpos apoptóticos e fragmentação nuclear).

**Figura 9** – Painel morfológico dos queratinócitos expostos e não expostos à radiação após coloração com cristal violeta.

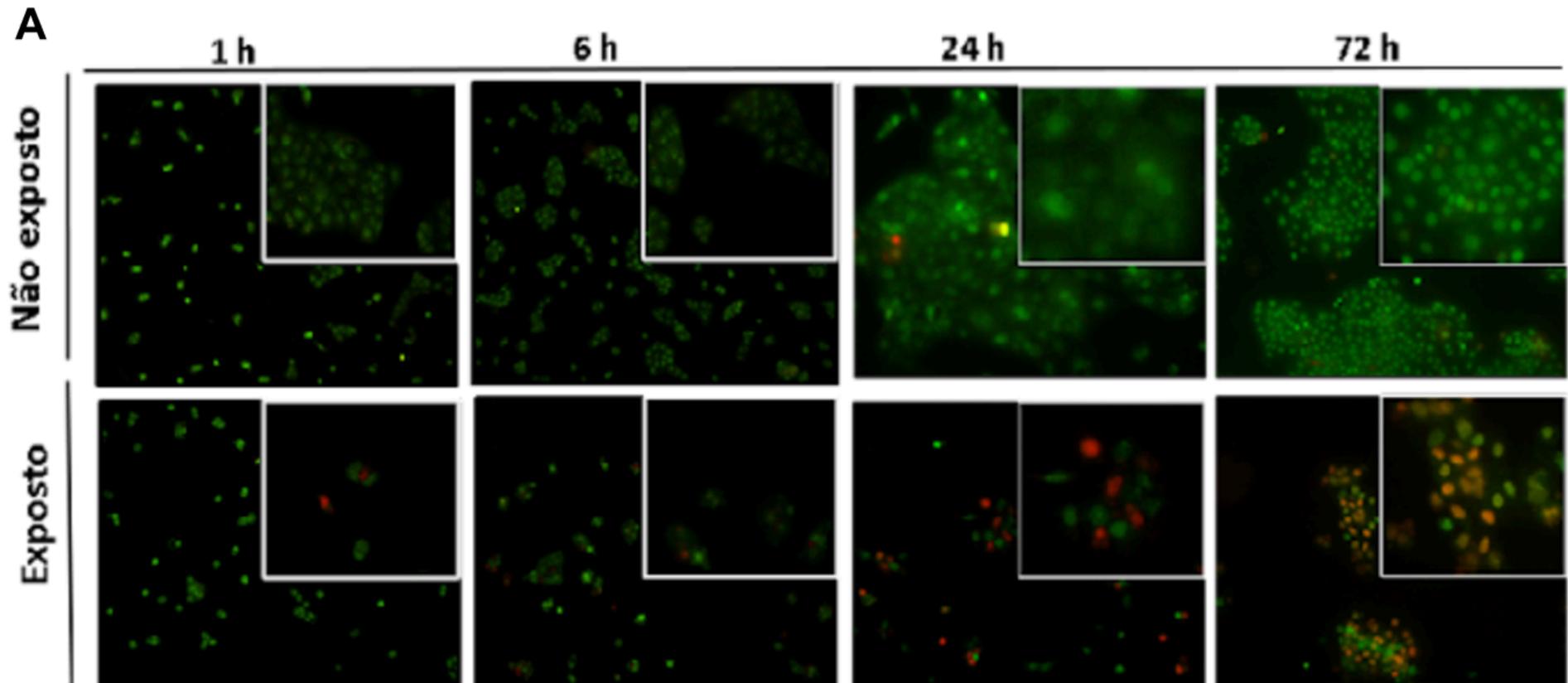


Microfotografias de células de queratinócitos corados com cristal violeta após exposição durante 10s à radiação UV-C. As microfotografias foram tiradas no aumento de 10x e 100x após a coloração com cristal violeta. As setas representam diferentes características morfológicas das células: Vermelha = fragmentação e presença de restos celulares; Azul = Núcleos picnóticos; Amarela = hipertrofia celular.

### **5.3 Avaliação da morte celular por marcação com os corantes laranja de acridina e iodeto de propídio**

A avaliação da morte celular foi conduzida por meio da coloração com os corantes fluorescentes laranja de acridina e iodeto de propídio, que são agentes intercalantes do DNA da célula. A figura 10 (p. 40) contém imagens representativas de todos os tempos e grupos avaliados, ilustrando que os resultados obtidos foram consistentes com as observações morfológicas anteriores, indicando um aumento progressivo na proporção de células não viáveis à medida que o tempo de análise se estendia. Isso reforça a influência mais tardia da radiação sobre as células.

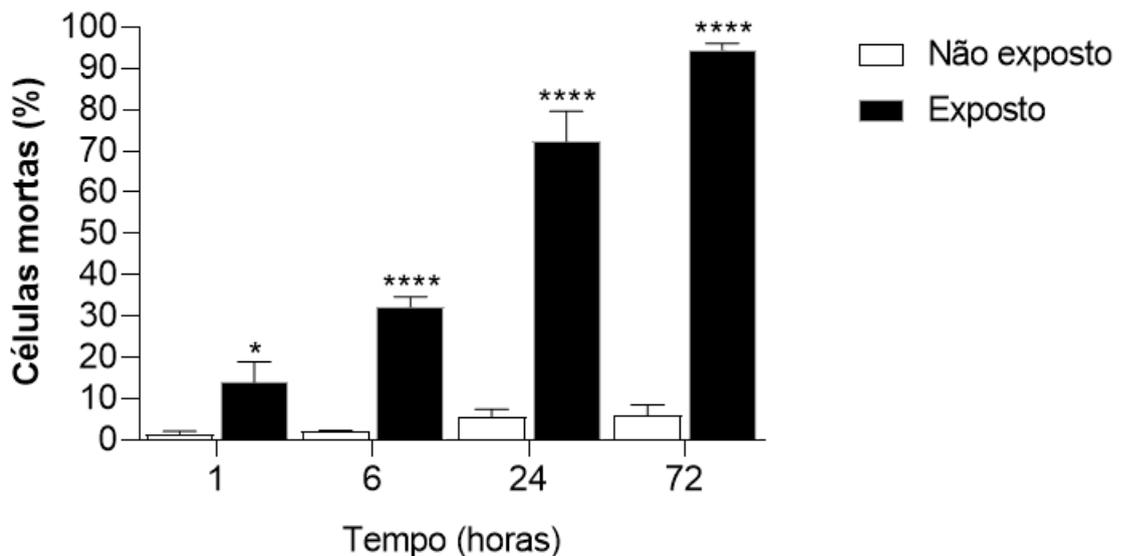
Figura 10 – Painel da coloração com LA/IP dos queratinócitos expostos e não expostos à radiação.



Microfotografias de células HaCaT coradas com laranja de acridina e iodeto de propídio (A) após exposição durante 10 s à radiação UV-C. As fotos foram tiradas nos aumentos de 10x e 40x após a marcação com os corantes fluorescentes.

De forma a quantificar o número de células marcadas positivamente com LA, após a contagem e análise das imagens, observa-se na figura 11 a quantificação das células mortas, confirmando o aumento no número de células marcadas em laranja à medida que o tempo de análise se prolongava, sendo observado 22,3%, 34,7%, 83,5% e x% de células com dupla marcação (mortas), nos tempos de 1, 6, 24 e 72 horas, respectivamente.

**Figura 11** - Contagem de células mortas presentes no ensaio de LA/IP

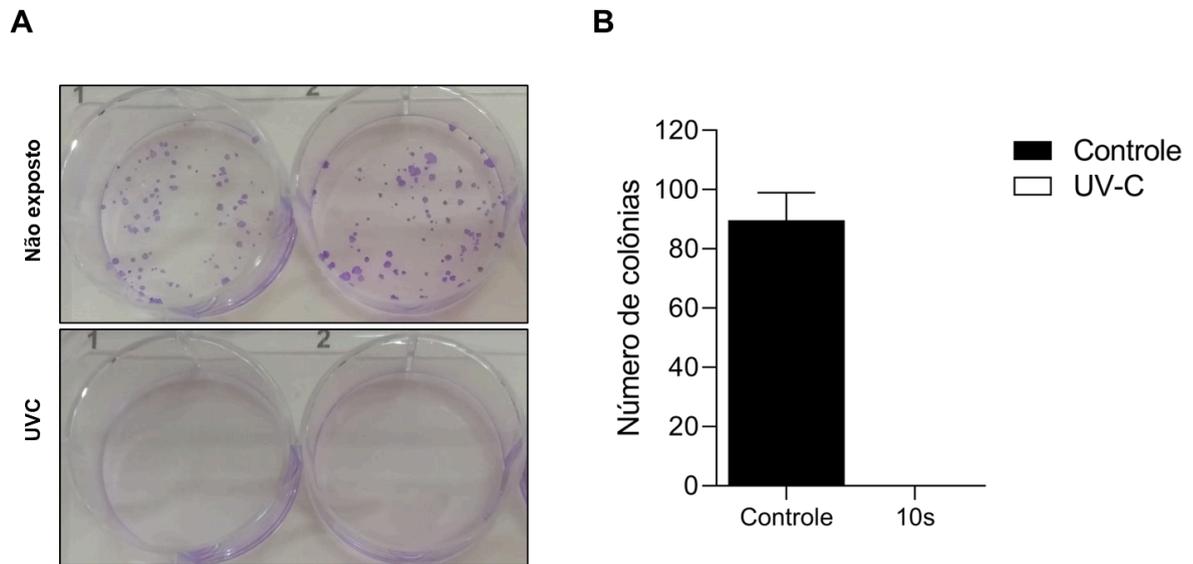


Porcentagem de células mortas após a exposição a uma luminária portátil com radiação UV-C através do ensaio de marcação fluorescente por LA/IP. Os dados foram expressos como  $M \pm EPM$ , e os dados foram analisados estatisticamente usando ANOVA de duas vias, seguido do pós-teste de Bonferroni, com o software GraphPad Prism versão 8.0. \* $p < 0.05$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo de células não expostas.

#### **5.4 A ação da Radiação UV-C eliminou completamente os queratinócitos expostos após 14 dias da exposição**

O resultado encontrado na Figura 12 (p. 42) demonstra que após a exposição à radiação UV-C, notou-se uma completa ausência de colônias no grupo exposto, indicando uma eliminação total das células clonogênicas. Essa observação contrasta diretamente com o grupo não exposto, onde a presença de colônias foi mantida, evidenciando a eficácia da radiação UV-C na erradicação das células. A análise sequencial ao longo dos períodos pós-exposição, em intervalos de 1, 6, 24 e 72 horas, corroborou essa tendência, revelando uma drástica diferença na capacidade clonogênica entre os grupos exposto e não exposto. Esses achados reforçam a evidência da ação deletéria da radiação UV-C sobre a linhagem de queratinócitos.

**Figura 12** - Fotografia do ensaio clonogênico e contagem de colônias

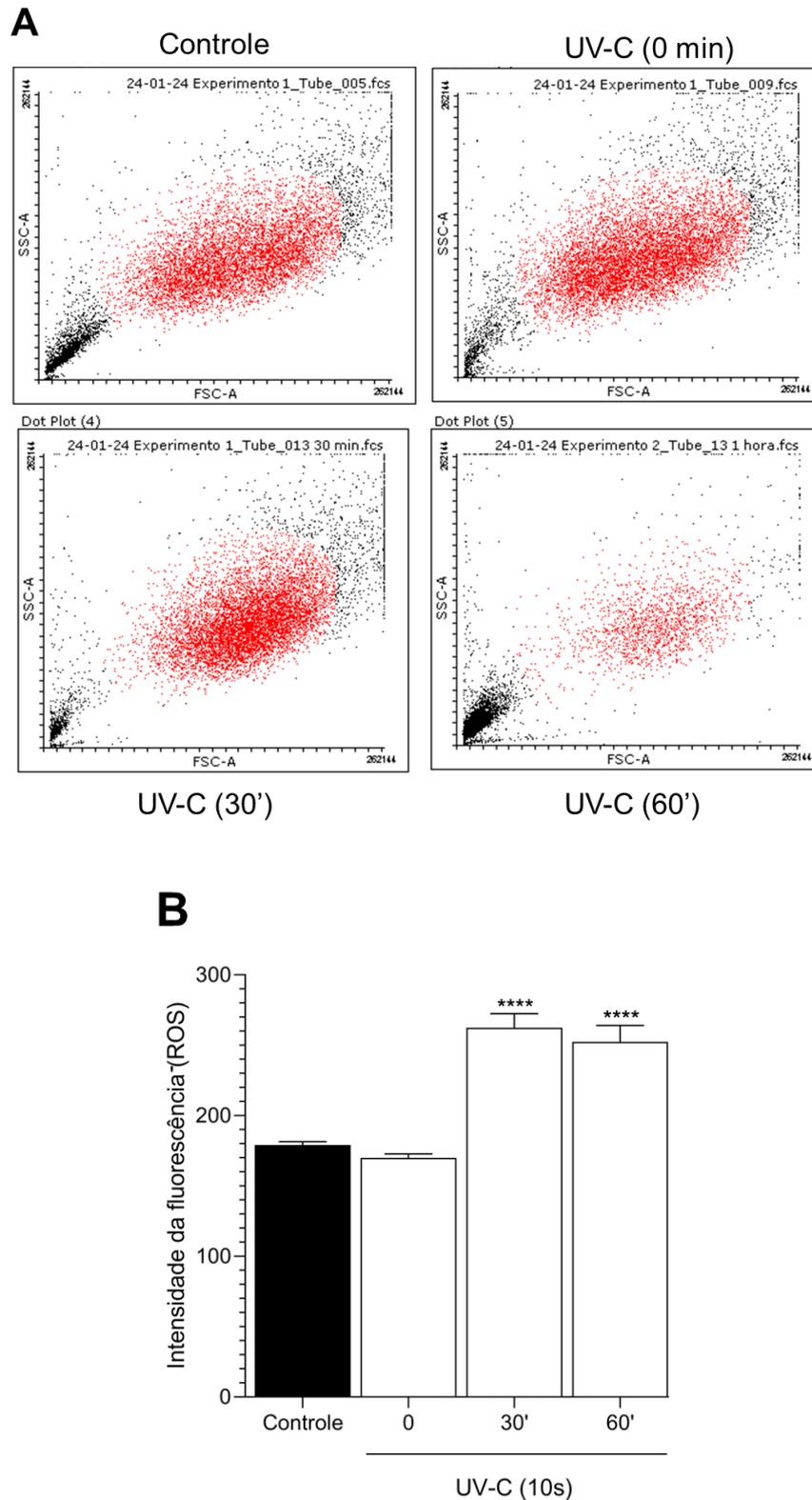


(A) Fotografia da placa do ensaio clonogênico corado com cristal violeta. (B) Gráfico do número de colônias contadas nos grupos não expostos e expostos à radiação.

### 5.5 A radiação UV-C promove a geração de espécies reativas de oxigênio

A exposição à radiação UV-C por 10 segundos foi capaz de gerar um aumento na produção de EROs após a exposição à radiação UV-C, como pode ser observado na figura 13 (p. 43). No entanto, os níveis de ROS não demonstraram alterações estatisticamente significativas imediatamente após a exposição, sugerindo uma resposta inicial conservadora à radiação. Contudo, 30 minutos após a exposição, houve um aumento significativo na produção de EROs de 46,5%, indicando um impacto mais pronunciado da radiação nesse período. A análise realizada 60 minutos após a exposição revelou um padrão similar ao tempo de 30 minutos de análise, aumentando a produção de EROs em 40,9%. Entretanto, foram observados um maior número de partículas/debris no histograma obtido por citometria de fluxo nas células do tempo de 60 minutos de análise, indicando possível fragmentação e morte celular. Esses resultados sugerem que a exposição à radiação UV-C promove um aumento na produção de EROs, que consequentemente influencia nos processos deletérios observados neste trabalho e descritos na literatura.

**Figura 13** - Produção de EROs na ausência ou presença da radiação



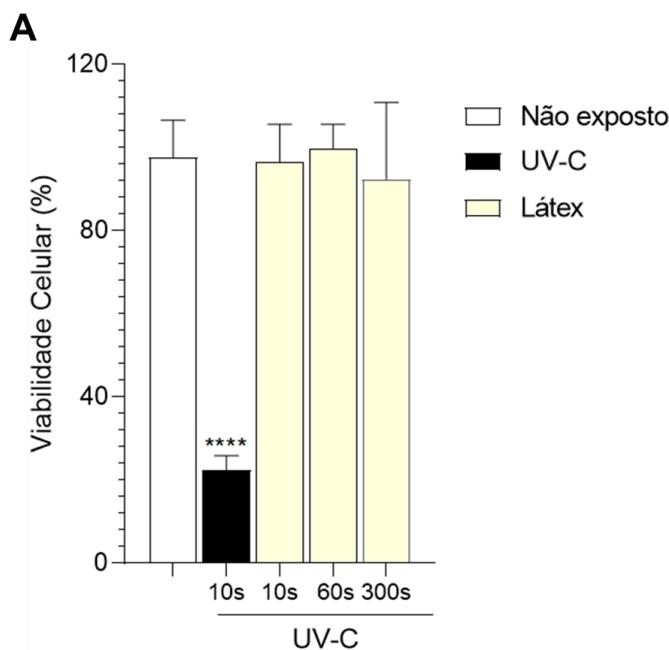
Análise da geração de EROs por citometria de fluxo dos queratinóticos expostos à radiação UV-C. (A) Histograma dos grupos analisados; (B) Gráfico da intensidade de fluorescência dos grupos analisados. Dados expressos como  $M \pm EPM$ , e analisados por ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo de células não expostas.

## 5.6 O uso de materiais empregados na construção de EPIs mitiga os efeitos deletérios provocados às células

Para avaliar a eficácia dos materiais utilizados na confecção de EPIs contra os danos da radiação UV-C e garantir um uso seguro de dispositivos de radiação UV-C por parte do operador, foi conduzido inicialmente um ensaio de viabilidade celular por MTT. Devido a resposta sobre as células tempo-dependente observada nos ensaios anteriores, foi escolhido o tempo de 72h de análise após a exposição à radiação. Além do tempo de 10 segundos, a escolha dos outros tempos avaliados foi relacionada ao tempo necessário para a eliminação mais eficaz dos microrganismos, de acordo com os dados não mostrados e citados no referencial teórico.

Com isso, observou-se que as células expostas à radiação UV-C por 10, 60 e 300 segundos na presença de um fragmento de luva de látex, não apresentaram redução na viabilidade celular, quando comparadas com as células sem a presença do látex, nos 3 tempos de exposição analisados, de 10, 60 e 300 segundos de exposição (Figura 14).

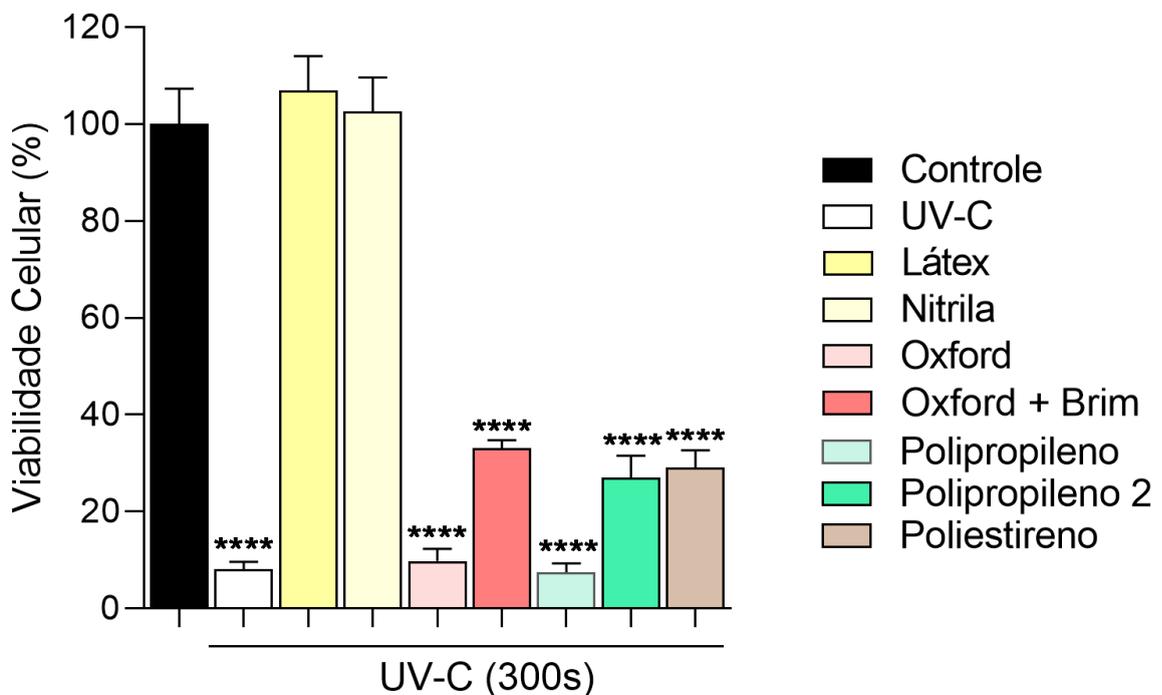
**Figura 14** – Gráfico de viabilidade celular dos queratinócitos expostos na presença e ausência do látex como barreira



Análise da viabilidade celular dos queratinócitos expostos à radiação UV-C. Dados expressos como  $M \pm EPM$ , e analisados por ANOVA de uma via, seguido do pós-teste de Tukey \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo de células não expostas.

Um segundo conjunto de ensaios de viabilidade celular por MTT foi conduzido para avaliar a eficácia protetora de materiais adicionais após 72h após a exposição à radiação durante um período mais prolongado de exposição, estendendo-se por 300 segundos. Além do látex previamente mencionado, também foram realizados testes com o uso dos outros materiais, como nitrilo, polipropileno (derivado de máscara tripla descartável ou PFF2), tecido em camada única ou dupla (Oxford ou Oxford + Brim), e poliestireno (*face shield*). Como evidenciado nas Figura 15, o látex e a nitrila demonstraram capacidade considerável de proteção às células, por manterem viabilidade celular similar à do grupo controle.

**Figura 15** – Gráfico de viabilidade celular dos queratinócitos expostos na presença e ausência de diferentes materiais



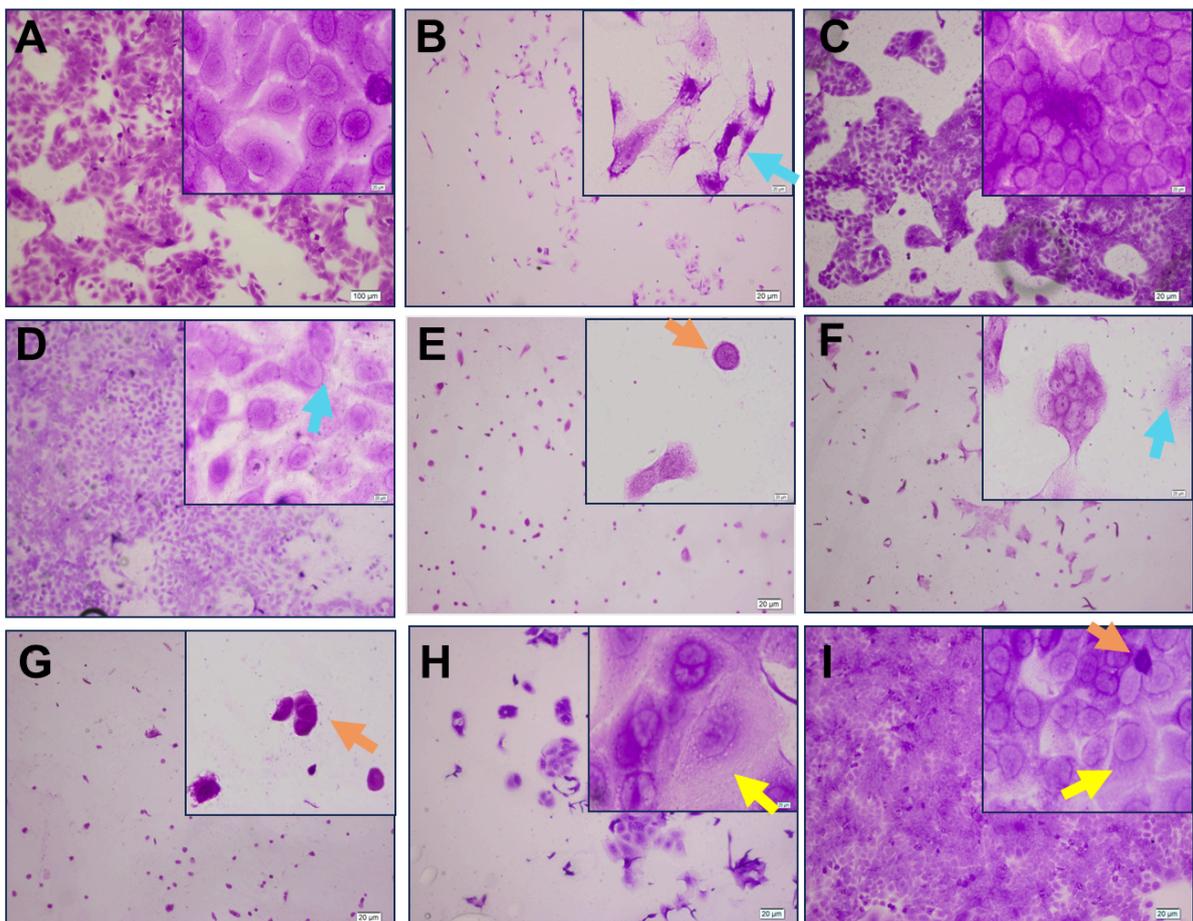
Viabilidade celular de queratinócitos avaliados 72h após a exposição à radiação UVC por 10, 60 e/ou 300 segundos com a utilização do látex (A) e com os demais materiais (B). Os dados foram expressos como  $M \pm EPM$ , e os dados foram analisados estatisticamente usando ANOVA de uma ou duas vias, seguido do pós-teste de Tukey ou Bonferroni, com o software GraphPad Prism versão 8.0. \*\*\*\* $p < 0,0001$  em relação ao grupo de células não expostas.

### 5.7 A presença de barreira de látex e nitrilo ameniza as alterações morfológicas das células expostas à radiação UV-C

Para avaliar o impacto dos materiais na preservação da morfologia dos queratinócitos após a exposição à radiação UV-C por 300 segundos, foi conduzido

um ensaio focado na análise morfológica. As células HaCaT saudáveis apresentam um formato poligonal, com bordas bem definidas, núcleo grande e arredondado com nucléolos proeminentes, além de apresentarem crescimento em monocamada com forte adesão ao substrato da cultura. Após 72 horas da exposição, as células coradas com cristal violeta revelaram que o uso do látex e da nitrila resultaram em uma notável atenuação das alterações morfológicas nos queratinócitos, em comparação com o grupo sem proteção (Figura 16).

**Figura 16** – Painel morfológico dos queratinócitos expostos por 300 segundos na presença e ausência de diferentes materiais



Painel morfológico dos queratinócitos expostos à radiação UV-C com e sem dos materiais, e corados com cristal violeta avaliados após 72h pós-exposição. (A) Controle sem exposição, (B) UV-C, (C) Látex, (D) Nitrila, (E) Polipropileno, (F) Polipropileno (PFF2), (G) Oxford, (H) Oxford + Brim, (I) Poliestireno. As setas representam diferentes características morfológicas das células: Azul = fragmentação e presença de restos celulares; Laranja = Núcleos picnóticos; Amarela = hipertrofia celular.

Mesmo que de maneira discreta, é possível perceber diferenças na morfologia celular entre esses grupos, como um maior diâmetro do citoplasma, especialmente no grupo protegido pela nitrila. Por outro lado, os grupos que utilizaram o polipropileno e o oxford como proteção apresentaram alterações

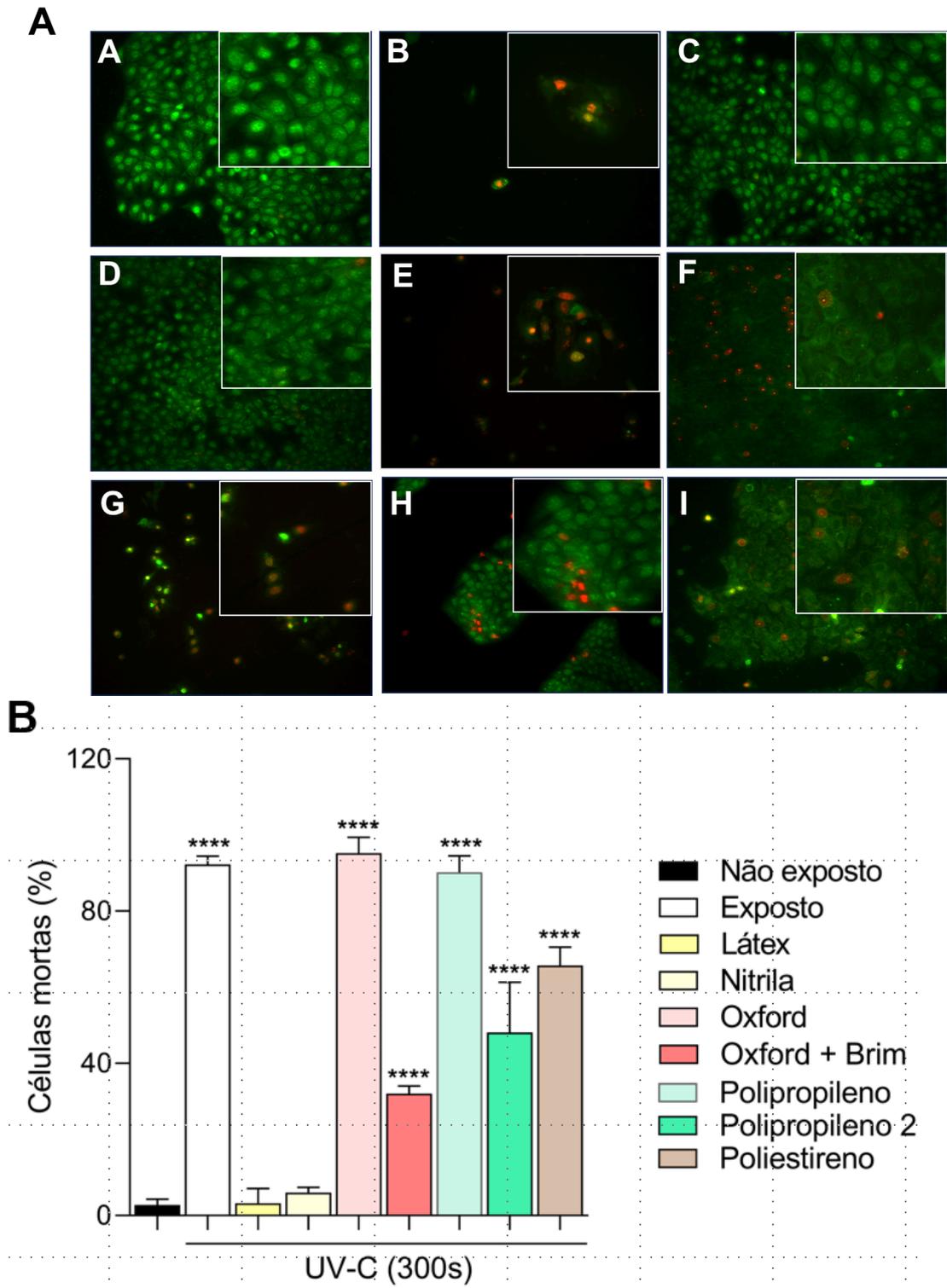
morfológicas mais pronunciadas, com a presença de células atípicas, com núcleos picnóticos (seta laranja), e uma significativa diminuição da densidade de células, sugerindo uma eficácia consideravelmente inferior em comparação com as luvas. Já o poliestireno mostrou-se como um material consideravelmente eficaz na preservação da morfologia celular, entretanto, também apresentou alterações celulares como a presença de núcleos picnóticos e hipertrofia celular.

### **6.8 O uso de alguns tipos de materiais reduzem a quantidade de células mortas em resposta à radiação UV-C**

No ensaio de dupla marcação com LA e IP observou-se que ao utilizar os materiais de látex e nitrilo componentes de luvas de borracha e de procedimentos, os queratinócitos expostos à radiação UV-C por 300 segundos apresentaram atenuação da quantidade de células mortas, bem como uma manutenção da densidade celular, de maneira similar ao controle não exposto (Figura 16A, p. 48), o que indica que estes materiais apresentam um potencial benéfico quanto à sua utilização como barreira para a radiação UV-C. Já o polipropileno e o oxford apresentaram um resultado mais similar ao grupo exposto sem a presença de barreira física, indicando uma baixa proteção. Ainda que o polipropileno proveniente de PFF2 e o poliestireno tenham apresentado uma manutenção da densidade celular, foi possível observar uma quantidade considerável de células marcadas, bem como alterações morfológicas. As células desses grupos apresentaram uma delimitação célula-célula menos definida, com uma aparente redução na fluorescência. Com relação ao grupo Oxford + Brim, foi possível observar um resultado melhor, em relação ao grupo oxford apenas, indicando que duas camadas de tecido apresentam uma capacidade de barrar melhor a radiação.

O gráfico apresentado na figura 16B (p.48) demonstra a quantificação de células mortas, trazendo novamente como material mais protetor o látex e a nitrila, com um menor número de células mortas.

**Figura 17** - Painel da coloração com LA/IP dos queratinócitos por 300 segundos na presença e ausência de diferentes materiais



(A) Microfotografias dos queratinócitos expostos à radiação UV-C corados com LA/IP na presença ou ausência dos materiais avaliados após 72h pós-exposição (B) Gráfico da quantificação de células mortas dos grupos avaliados.. (A) Controle sem exposição, (B) UV-C, (C) Látex, (D) Nitrila, (E) Polipropileno, (F) Polipropileno (PFF2), (G) Oxford, (H) Oxford + Brim, (I) Poliestireno.

## 6 DISCUSSÃO

Devido ao surgimento da pandemia de COVID-19, a busca por equipamentos de desinfecção do ar e de superfícies por meio de raios ultravioleta (UV) tem recebido grande atenção, e diversos produtos foram disponibilizados no mercado (Raeiszadeh; Adeli, 2020). Com a alta demanda, subiram os preços para a compra desses dispositivos, como robôs para esterilização de ambientes, podendo chegar a valores de até \$90.000 (Zaman *et al.*, 2022). Em contrapartida, o aumento na demanda impulsionou também a pesquisa pela produção de novos dispositivos, bem como ampliar as informações sobre os efeitos da radiação UV-C nos diferentes tipos de células humanas (Dos Santos; Castro, 2021; Lai; Nunayon, 2021; Olcay *et al.*, 2021;). Essa expansão na produção visa atender não apenas à crescente demanda, mas também a um desejo geral de criar ambientes mais seguros e higienizados em diversas instalações, incluindo hospitais, estabelecimentos de saúde e espaços públicos (Zaman *et al.*, 2022).

A busca intensa por este tipo de dispositivo se dá devido a sua alta eficácia na eliminação de diferentes tipos de microrganismos, desde vírus, bactérias, fungos, chegando a eliminar até 99% da carga total destes (Binns *et al.*, 2020; Torres *et al.*, 2020; Abkar *et al.*, 2020). Nesse contexto, devido à possibilidade de haver exposições acidentais ao utilizar esse tipo de dispositivo, é de suma importância investigar os efeitos da radiação UV-C, bem como maneiras de diminuir os riscos associados à sua utilização.

Assim, analisando a literatura, observa-se que a caracterização sobre a cinética temporal dos efeitos causados sobre diferentes células, bem como a delimitação dos parâmetros de irradiação são diversos, e nem sempre demonstrados ou levados em consideração. Observou-se ainda que, devido ao incentivo na utilização de dispositivos de radiação UV-C, em especial, em ambientes hospitalares, pode levar a exposição indesejada e acidental dos operadores e demais profissionais à radiação. Neste sentido, não foi identificado na literatura nenhum estudo que observasse o efeito de barreiras protetoras sobre células frente à exposição à radiação.

Desse modo, os resultados observados neste estudo mostraram que os efeitos deletérios sobre a linhagem de queratinócitos humanos não tumoral (HaCaT) decorrente da exposição das células à radiação UV-C (254 nm, 10 s) ocorreu de maneira tempo-dependente, corroborando com os resultados presentes na literatura,

que demonstram sua capacidade deletéria devido à absorção da energia pelas moléculas de DNA, e geração de espécies reativas de oxigênio que levam a lesões incompatíveis com a sobrevivência celular (Kaufmann, 2010).

Outros estudos *in vitro*, utilizando linhagens de células humanas, também demonstraram redução da viabilidade celular após a exposição à radiação UV. Um exemplo é o estudo de Wang e colaboradores (2015), que empregou a mesma linhagem de queratinócitos (HaCaT) e parâmetros similares (254 nm, 16 mJ/cm<sup>2</sup>), onde foi observada uma redução de aproximadamente 80% na viabilidade celular quando as células foram expostas e analisadas 24 horas após, resultado que corrobora com os achados deste trabalho. Resultados similares são apresentados também no trabalho de Mahendra e colaboradores (2019), que utilizou células HaCaT, mas com uma diferença nos parâmetros da luminária, no que se refere à potência (40 µJ/cm<sup>2</sup>), sendo cerca de 400x menor. Após exposições variando entre 0, 6, 9 e 12 segundos, observou-se uma redução na viabilidade celular dependente do tempo de exposição, alcançando uma diminuição de aproximadamente 60% após 24 horas quando as células foram expostas por 12 segundos (Mahendra *et al.*, 2019). É possível ainda comparar similaridades morfológicas das células apresentadas no estudo de Mahendra e colaboradores (2019), devido ao evidenciamento da presença de células em processo de morte celular, com características similares às encontradas neste trabalho.

O trabalho de Sakagami e colaboradores (2022) observou que ao avaliar os efeitos da radiação UV-C sob fibroblastos gengivais, periodontais, dérmicos e células pulpares de linhagens não tumorais, houve maior resistência à radiação em comparação com linhagens tumorais humanas (carcinoma de células escamosas orais, câncer de pulmão, glioblastoma, leucemia e melanoma). Este estudo revelou que células normais apresentam uma maior resistência à exposição à radiação UV-C em comparação com linhas celulares de câncer, como carcinoma de células escamosas oral, câncer de pulmão, glioblastoma, leucemia e melanoma (Sakagami *et al.*, 2022). O autor sugeriu que células com maior capacidade de proliferação são mais suscetíveis aos danos nocivos da radiação UV-C, o que explica a maior nocividade nas células tumorais, diferente dos fibroblastos que apresentam taxas de proliferação menor em comparação (Sakagami *et al.*, 2022).

Os mecanismos subjacentes ao dano celular induzido pela radiação UV-B e UV-C são diversificados, abrangendo alterações no ciclo celular, formação de dímeros de ciclopirimidina, modificações nas bases nitrogenadas, quebras na dupla

fita de DNA, dano oxidativo e mutações (D'orazio *et al.*, 2013). Todas essas características contribuem para desencadear a morte celular de maneiras diversas, envolvendo mecanismos como apoptose, piroptose, necroptose e autofagia (Tang *et al.*, 2021).

Nesse sentido, como foi possível observar nos resultados deste estudo, a exposição por 10 segundos à radiação UV-C foi capaz de induzir a geração de espécies reativas de oxigênio nos tempos de 30 e 60 minutos após a exposição. Esse fator pode estar relacionado ao tempo de resposta das células à radiação, que dependem de fatores controlados pelos sistemas de resposta ao estresse celular inerentes ao metabolismo das células (Sies *et al.*, 2022).

A produção excessiva de EROs pode resultar em danos ao DNA, proteínas, e membranas celulares, levando a uma interrupção crítica no metabolismo celular e à ativação de vias apoptóticas (Villalpando-Rodriguez; Gibson, 2021). O estresse oxidativo causado pelo acúmulo de EROS em excesso pode inibir a função de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e a catalase, que normalmente protegem a célula contra danos oxidativos (Huchzermeyer *et al.*, 2022). Além disso, a superprodução de ROS pode levar a um desequilíbrio no potencial de membrana mitocondrial e ao escape de citocromos C da mitocôndria para o citoplasma, ativando assim a via extrínseca da apoptose mediada por caspases (Brillo, *et al.*, 2021).

Como foi possível observar no histograma, há uma maior quantidade de partículas de tamanho inferior ao grupo de células selecionado no tempo de 60 minutos, o que pode estar relacionado à presença de restos celulares das células que de maneira aguda já concluíram o processo de morte celular. Esses resultados podem ser projetados para a progressão temporal na perda de viabilidade celular evidenciada nos intervalos de 1, 6, 24 e 72 horas pós-exposição, pois podem estar relacionados com o tempo necessário para a conclusão dos processos intracelulares de morte celular (Wouters, 2018).

A velocidade com que as células morrem pode ser variável, dependendo do tipo de célula e das condições que a causaram (Tang *et al.*, 2021). Fatores como a extensão do dano causado, o tempo de resposta das células, a ativação e a execução de mecanismos de reparo do DNA e outras respostas celulares adaptativas são cruciais para determinar a duração desse processo, que pode levar de horas até alguns dias (Bertheloot; Latz; Franklin, 2021). Esses achados são consistentes com a literatura existente, que previamente demonstrou os danos

induzidos pela radiação UV-C na pele, incluindo riscos a longo prazo como fotoenvelhecimento, fotoimunossupressão e fotocarcinogênese, afetando tanto a epiderme quanto a derme (Gromkowska-kepka *et al.*, 2021).

A detecção dos indicativos de morte celular nos resultados obtidos neste trabalho, ressalta que o dispositivo de radiação UV-C empregado no presente estudo efetivamente causa danos consistentes com a literatura, indicando que os materiais de reuso usados para a sua confecção garantem o funcionamento adequado da luminária. Este achado, combinado com análises da eficácia antimicrobiana da luminária (dados não mostrados neste trabalho e indicados na justificativa do mesmo), oferecem uma base sólida para a implementação da sua utilização em unidades de saúde pública, representando uma contribuição valiosa para a promoção de ambientes mais higienizados e seguros.

A luminária foi construída de forma a emitir radiação unidirecionalmente, minimizando assim os riscos de exposição acidental para os indivíduos que a utilizam. No entanto, é importante observar que o manuseio seguro da luminária depende da precaução dos usuários em não direcionar o feixe de luz UV-C diretamente para o próprio corpo, bem como não haver esquecimento da luz ligada, por exemplo, gerando exposição indesejada. Mesmo com essa característica de segurança, exposições acidentais podem ocorrer, levantando a questionamentos sobre quais tipos de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) podem ser empregados para garantir um uso seguro da luminária.

Portanto, para que a utilização do equipamento por profissionais de saúde, ou pelos colaboradores responsáveis pela higienização, ocorra de maneira mais segura, foram realizados ensaios com o propósito de avaliar o uso de materiais empregados na confecção de EPIs, na perspectiva de sugerir seu uso como uma barreira de proteção contra os danos causados pela radiação UV-C. Para isso, usando a mesma linhagem de queratinócitos onde observou-se os efeitos danosos decorrentes da exposição direta, repetiu-se as mesmas condições de exposição, variando o tempo de exposição e analisados 72 horas após a exposição. De acordo com os resultados obtidos até o momento que avaliaram a viabilidade celular e a morfologia das células, foi possível observar que o látex, material bastante utilizado na confecção de luvas de borracha para uso doméstico e hospitalar, conferiu proteção às células por não apresentar redução da viabilidade celular nos tempos de 10 s, 60 s e 300 s de exposição.

Buscando ampliar a observação sobre outros tipos de materiais, com diferentes composições e usados por profissionais da saúde e colaboradores que trabalham no ambiente hospitalar, foram selecionados: a nitrila, material utilizado na confecção de luvas; polipropileno, utilizado na confecção de máscaras descartáveis do tipo tripla camada e em máscaras do tipo PFF2; tecido Oxford, muito utilizado na confecção de jalecos, e "pijamas" hospitalares usados pelos profissionais de saúde, e o brim, que simularia uma segunda camada de tecido, visto que os jalecos são utilizados sobrepondo outra roupa, e por fim, o poliestireno, usado na confecção de barreiras como "*faceshield*". Para a realização de mais ensaios de viabilidade e análise da morfologia celular, desta vez foi selecionado um tempo de exposição de 300 segundos, tempo superior ao necessário para obtenção de 100% do efeito antimicrobiano (dados não mostrados) com as análises realizadas 72 horas após a exposição (Figura 14, p. 40).

Neste conjunto de resultados observou-se que apenas o látex e a nitrila conferiram uma proteção às células, devido a manutenção da viabilidade celular e ausência de alterações morfológicas pronunciadas, apresentando características similares ao controle não exposto. O segundo grupo de materiais que promoveram redução do impacto da viabilidade celular em 24,1% foi o tecido tipo oxford usado em associação com o brim usado em uniformes (dupla camada), onde as células apresentaram uma redução de 66,7% na viabilidade, e por fim o polipropileno derivado da PFF2 e o poliestireno com redução de 18,9 e 20,9% respectivamente quando comparados ao grupo exposto, apresentando assim a redução de cerca de 73% da viabilidade. Já o tecido oxford sozinho, e o polipropileno derivado de máscara descartável apresentaram um resultado similar ao das células sem nenhum tipo de proteção.

Estes resultados demonstram que o tipo de material utilizado na confecção de cada EPI está diretamente ligado com a proteção oferecida. De acordo com Abbasi e colaboradores (2018), a radiação UV-C degrada o polipropileno acelerando a quebra das cadeias poliméricas, com a estrutura física dos filamentos influenciando significativamente o processo de degradação deste material. Este processo, aliado à permeabilidade do material nesse contexto, podem ajudar a explicar a baixa proteção da máscara de polipropileno em camada tripla conferida aos queratinócitos. Entretanto, como visto uma maior proteção conferida pelo polipropileno derivado de máscaras PFF2, deve se dar devido a sua maior espessura, rigidez e arquitetura das fibras, proporcionando uma barreira mais difícil de ser ultrapassada pela radiação.

A exposição à radiação UV-C também gera degradação nos outros materiais utilizados na confecção de EPIs, como pôde ser observado no estudo de Handke (2019) que ao expor fragmentos dos materiais utilizados para a confecção de luvas à radiação UV-C por 24h, observou que o látex é mais elástico do que o nitrilo, mas é mais suscetível a quebrar, requerendo menos força de tração para se romper após a exposição à radiação. Visto que o tempo de exposição utilizado no estudo de Handke (2019) foi extremamente maior em comparação com este estudo, tais danos relatados não foram observados. Já o estudo de Chandran e colaboradores (2021), observou que ao expor tecidos usados na confecção de EPIs à radiação UV-C (58,61 J/m<sup>2</sup>), foi possível observar algumas alterações como o afinamento das fibras de tecido, entretanto, não foi possível definir se o que ocasionou essa alteração foi a radiação propriamente dita, ou a temperatura gerada pela lâmpada de alta potência.

Entretanto, para que um tecido seja capaz de realizar uma proteção, é necessário que este apresente o fator de proteção ultravioleta, que caracteriza um tecido capaz de absorver e refletir a radiação sem permitir que esta atravesse o tecido, atingindo a pele dos seus usuários (Alebeid; Zhao, 2017). Portanto, considerando que o tecido utilizado no presente estudo não possui uma certificação de proteção ultravioleta, já é esperada a ausência de proteção. Embora ocorram alterações na viabilidade celular, a modesta proteção conferida às células sugere que a utilização desse EPI ainda é válida para mitigar, mesmo que de maneira limitada, os danos causados por uma exposição acidental. No entanto, é imperativo conduzir mais estudos para confirmar o grau de proteção proporcionado às células.

A luz UV-C apresenta algumas características que devem ser levadas em consideração: devido a seu curto comprimento de onda e alta energia, sua intensidade energética diminui à medida que a distância da fonte aumenta (Elgujja; Altahi; Ezreqat, 2020). Objetos entre a fonte da luz e o alvo podem criar sombras que impedem sua eficácia, visto que para a eliminação dos microrganismos é necessário o contato direto da luz emitida pelos dispositivos, e as células microbianas (Weber *et al.*, 2016). Embora a luz UV-C possa apresentar reflexibilidade em algumas superfícies, materiais orgânicos tendem a absorver esta luz, requerendo então que as superfícies a serem descontaminadas sejam limpas previamente, com detergentes, ou álcool 70%, por exemplo, para eliminar tais materiais orgânicos que impeçam a total eficácia da radiação (Lindblad *et al.*, 2020). Nesse sentido, para que houvesse uma exposição do indivíduo, seria necessário que o mesmo colocasse partes do seu corpo em contato direto com a luz emitida,

com uma pequena distância da fonte, e o uso de EPIs reduziria as chances da exposição causar algum dano significativo ao usuário.

A considerável redução na viabilidade celular, as alterações morfológicas indicativas de morte celular e a detecção de células não viáveis no ensaio de fluorescência com laranja de acridina e iodeto de propídio e o aumento na geração de EROs destacam a significativa influência da radiação sobre as células. Portanto, este estudo fornece informações valiosas que demonstram os efeitos nocivos da radiação UV-C proporcionados pelo dispositivo de baixo custo, e oferece conhecimentos relevantes para desenvolver estratégias visando um uso seguro da luminária, por meio da adoção de protocolos que utilizem equipamentos de proteção individual.

Além disso, os resultados obtidos com a luminária construída com materiais de reuso, demonstraram que, apesar da origem dos materiais, a luminária funciona conforme o esperado. Isso sugere que a utilização de materiais de reuso pode ser uma alternativa viável e sustentável para a fabricação de dispositivos de desinfecção, especialmente em contextos onde o valor deste tipo de equipamento encontrado no mercado acaba tendo altos custos.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir do estudo da radiação UV-C sobre queratinócitos humanos são consistentes com a literatura existente, confirmando os efeitos deletérios conhecidos dessa forma de radiação. Este estudo foi capaz de mostrar, entretanto, que a utilização de materiais adequados como barreiras pode reduzir significativamente os danos causados pela radiação, sugerindo a viabilidade de intervenções práticas para minimizar seus efeitos nocivos. A compreensão das alterações morfológicas nas células após a exposição à radiação, bem como a identificação do estresse oxidativo como um dos principais fatores responsáveis por esses danos, são contribuições valiosas para a área.

Uma das limitações do estudo é o uso de um modelo de cultura de células em monocamada, que não reflete fielmente a complexidade da pele humana. Esta simplificação pode ter subestimado a eficácia dos materiais como barreira protetora, uma vez que a pele real possui diversas camadas de células e mecanismos de defesa que podem contribuir para a redução dos danos causados pela radiação UV-C. Além disso, o estudo evidencia a importância de avaliar não apenas os danos induzidos pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, mas também os danos diretos ao DNA, para uma compreensão abrangente dos efeitos nocivos da radiação UV-C.

Por fim, sugere-se que futuras pesquisas investiguem mais detalhadamente o papel do látex e da nitrila na proteção contra o estresse oxidativo, bem como o impacto direto sobre o DNA, a fim de averiguar de maneira mais precisa se estes materiais realmente conseguem barrar todos os danos causados pela radiação UV-C. Este estudo representa um passo importante na compreensão dos efeitos da radiação UV-C sobre as células da pele humana e oferece insights valiosos para a criação de medidas de proteção mais eficientes e seguras.

## REFERÊNCIAS

ABBASI MAHMOODABADI, H.; HAGHIGHAT KISH, M.; ASLANZADEH, S. Photodegradation of partially oriented and drawn polypropylene filaments. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 7, p. 45716, 2018.

ABKAR, L. *et al.* COVID-19 pandemic lesson learned-critical parameters and research needs for UVC inactivation of viral aerosols. **Journal of hazardous materials advances**, v. 8, p. 100183, 2022.

ACOSTA, Silvina *et al.* Photo-repair effect of a bacterial Antarctic CPD-photolyase on UVC-induced DNA lesions in human keratinocytes. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 96, p. 104001, 2022.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS)2021–2025. **Anvisa**, 2021. Disponível em:  
[https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras\\_2021\\_2025.pdf](https://www.gov.br/anvisa/ptbr/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras_2021_2025.pdf).

ALEBEID, O. K.; ZHAO, T.. Review on: developing UV protection for cotton fabric. **The Journal of the Textile Institute**, v. 108, n. 12, p. 2027-2039, 2017.

AL-ZOHILY, B. *et al.* Epimers of vitamin D: a review. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 2, p. 470, 2020.

ANVISA. Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS) 2021 a 2025. **Anvisa**, p. 61, 2021.

ASSADIAN, O. *et al.* Practical recommendations for routine cleaning and disinfection procedures in healthcare institutions: a narrative review. **Journal of Hospital Infection**, v. 113, p. 104-114, 2021.

BARNES, Paul W. *et al.* Ozone depletion, ultraviolet radiation, climate change and prospects for a sustainable future. **Nature Sustainability**, v. 2, n. 7, p. 569-579, 2019.

BARONI, A. *et al.* Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 257–262, 2012.

BATTAGLIA, C. C.; HALE, K. Hospital-Acquired Infections in Critically Ill Patients With Cancer. **Journal of Intensive Care Medicine**, v. 34, n. 7, p. 523–536, 2019.

BECK, S. E. *et al.* Wavelength dependent UV inactivation and DNA damage of adenovirus as measured by cell culture infectivity and long range quantitative PCR. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 591–598, 2014.

BERTHELOOT, Damien; LATZ, Eicke; FRANKLIN, Bernardo S. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. **Cellular & molecular immunology**, v. 18, n. 5, p. 1106-1121, 2021.

BINNS, R. *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.

BLOT, Stijn *et al.* Healthcare-associated infections in adult intensive care unit patients: Changes in epidemiology, diagnosis, prevention and contributions of new technologies. **Intensive and Critical Care Nursing**, v. 70, p. 103227, 2022.

BOEV, C.; KISS, E. Hospital-Acquired Infections: Current Trends and Prevention. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 29, n. 1, p. 51–65, 2017.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 3: Principais Síndromes Infecciosas. 2010.

BUONANNO, M. *et al.* 207-nm UV Light - A Promising Tool for Safe Low-Cost Reduction of Surgical Site Infections. I: In Vitro Studies. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, p. 1–7, 2013.

BUONANNO, M. *et al.* 207-nm UV light - A promising tool for safe low-cost reduction of surgical site infections. II: In-vivo safety studies. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–12, 2016.

BUONANNO, M. *et al.* Far-UVC light (222 nm) efficiently and safely inactivates airborne human coronaviruses. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.

CARLING, P. C. Health care environmental hygiene: new insights and centers for disease control and prevention guidance. **Infectious Disease Clinics**, v. 35, n. 3, p. 609-629, 2021.

CASSINI, A. *et al.* Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. **The Lancet infectious diseases**, v. 19, n. 1, p. 56-66, 2019.

CHANDRAN, K. M. *et al.* Efficacy of ultraviolet-C devices for the disinfection of personal protective equipment fabrics and N95 respirators. **Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology**, v. 126, 2021.

CHANG, L. *et al.* miRNA-126 enhances viability, colony formation, and migration of keratinocytes HaCaT cells by regulating PI3 K/AKT signaling pathway. **Cell biology international**, v. 43, n. 2, p. 182-191, 2019.

CLAUSS, M.; GROTHJOHANN, N. Comparative mutagenesis of Escherichia coli strains with different repair deficiencies irradiated with 222-nm and 254-nm ultraviolet light. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 673, n. 2, p. 83–86, 2009.

D'ORAZIO, J. *et al.* UV radiation and the skin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 6, p. 12222–12248, 2013.

DELLINGER, E. P. Prevention of Hospital-Acquired Infections. **Surgical Infections**, v. 17, n. 4, p. 422–426, 2016.

DIAB-EL SCHAHAWI, M. *et al.* Ultraviolet disinfection robots to improve hospital cleaning: Real promise or just a gimmick?. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 10, p. 1-3, 2021..

DIRE, O. et al. Survival of *Candida auris* on environmental surface materials and low-level resistance to disinfectant. **Journal of Hospital Infection**, v. 137, p. 17-23, 2023.

DOMINGUEZ, Ligia J. et al. Vitamin D sources, metabolism, and deficiency: available compounds and guidelines for its treatment. **Metabolites**, v. 11, n. 4, p. 255, 2021.

DOS SANTOS, T.; DE CASTRO, L. Evaluation of a portable Ultraviolet C (UV-C) device for hospital surface decontamination. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 33, p. 102161, 2021.

ELGUJJA, A.; ALTALHI, H. H.; EZREQAT, S. Review of the efficacy of ultraviolet C for surface decontamination. **Journal of Nature and Science of Medicine**, v. 3, n. 1, p. 8-12, 2020.

FUCHS, E.; RAGHAVAN, S. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, n. 3, p. 199–209, 2002.

GALLAGHER, R. P. et al. Ultraviolet radiation. **Chronic diseases and injuries in Canada**, v. 29, 2010.

GALLANDAT, K. et al. A systematic review of chlorine-based surface disinfection efficacy to inform recommendations for low-resource outbreak settings. **American journal of infection control**, v. 49, n. 1, p. 90-103, 2021.

GIUSTARINI, D. et al. Nitrite and nitrate measurement by Griess reagent in human plasma: evaluation of interferences and standardization. **Methods in enzymology**, v. 440, p. 361-380, 2008.

GONZALES, K. A. U.; FUCHS, E. Skin and its regenerative powers: an alliance between stem cells and their niche. **Developmental cell**, v. 43, n. 4, p. 387-401, 2017.

GRAY, N. F. **Ultraviolet Disinfection**. Second Edi ed. [s.l.] Elsevier, 2013.

GROMKOWSKA-KEPKA, K. J. *et al.* The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging—Review of in vitro studies. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 20, n. 11, p. 3427-3431, 2021.

HADAWAY, A. Handwashing: clean hands save lives. **Journal of Consumer Health on the Internet**, v. 24, n. 1, p. 43-49, 2020.

HANDKE, D. C. **Examining the Effects of UV on Latex and Nitrile Glove Degradation**. Thesis (Undergraduate student) – Faculty of The Environmental Studies Program, University of Nebraska, Nebraska, 2019.

HEALTH QUALITY ONTARIO *et al.* Portable ultraviolet light surface-disinfecting devices for prevention of hospital-acquired infections: a health technology assessment. **Ontario health technology assessment series**, v. 18, n. 1, p. 1, 2018.

HERMAN, J. *et al.* Ultraviolet radiation at the Earth's surface. **UMBC Joint Center for Earth Systems Technology (JCET)**, 2023.

HESSLING, M. *et al.* The impact of far-UVC radiation (200-230 nm) on pathogens, cells, skin, and eyes - a collection and analysis of a hundred years of data. **GMS hygiene and infection control**, v. 16, p. Doc07, 2021.

HICKERSON, R. P. *et al.* Minimal, superficial DNA damage in human skin from filtered far-ultraviolet C. **British Journal of Dermatology**, v. 184, n. 6, p. 1197-1199, 2021.

HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. **Water Research**, v. 40, n. 1, p. 3–22, 2006.

HUO, H. *et al.* Simultaneously monitoring UVC-induced DNA damage and photoenzymatic repair of cyclobutane pyrimidine dimers by electrochemical impedance spectroscopy. **Talanta**, v. 239, p. 123081, 2022.

KABASHIMA, K. *et al.* The immunological anatomy of the skin. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 1, p. 19-30, 2019.

IKEHATA, H.; ONO, T. The mechanisms of UV mutagenesis. **Journal of Radiation Research**, v. 52, n. 2, p. 115–125, 2011.

ITO, S.; WAKAMATSU, K.; SARNA, T. Photodegradation of eumelanin and pheomelanin and its pathophysiological implications. **Photochemistry and photobiology**, v. 94, n. 3, p. 409-420, 2018.

JIANG, Y. *et al.* Cytokinocytes: the diverse contribution of keratinocytes to immune responses in skin. **JCI insight**, v. 5, n. 20, 2020.

JUAREZ-LEON, F. A. *et al.* Design and implementation of a germicidal UVC-LED lamp. **Ieee Access**, v. 8, p. 196951-196962, 2020.

KAUFMANN, W. K. The human intra-S checkpoint response to UVC-induced DNA damage. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 5, p. 751-765, 2010.

KIM, D.; KANG, D. Effect of surface characteristics on the bactericidal efficacy of UVC LEDs. **Food Control**, v. 108, p. 106869, 2020.

KOLLEF, M. H. *et al.* Nosocomial infection. **Critical care medicine**, v. 49, n. 2, p. 169-187, 2021.

Kondo, T.; Ishida, Y. Molecular pathology of wound healing. **Forensic Science International**, 203(1–3), 93–98, 2010.

LAI, A. CK; NUNAYON, S. S. A new UVC-LED system for disinfection of pathogens generated by toilet flushing. **Indoor Air**, v. 31, n. 2, p. 324-334, 2021.

LAI-CHEONG, J. E.; MCGRATH, J. A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, v. 45, n. 6, p. 347-351, 2017.

LAIKOVA, K. V. *et al.* Advances in the understanding of skin cancer: ultraviolet radiation, mutations, and antisense oligonucleotides as anticancer drugs. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1516, 2019.

LIARTE, Sergio; BERNABÉ-GARCÍA, Ángel; NICOLÁS, Francisco J. Role of TGF- $\beta$  in skin chronic wounds: a keratinocyte perspective. **Cells**, v. 9, n. 2, p. 306, 2020.

LIN, J. Y.; FISHER, D. E. Melanocyte biology and skin pigmentation. **Nature**, v. 445, n. 7130, p. 843-850, 2007.

LINDBLAD, M. *et al.* Ultraviolet-C decontamination of a hospital room: Amount of UV light needed. **Burns**, v. 46, n. 4, p. 842-849, 2020.

LIRA, J. V. A. *et al.* Perfil epidemiológico da sepse em unidades hospitalares de Alagoas Epidemiological profile of sepsis in hospital units in Alagoas. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 29279-29285, 2022.

LOSQUADRO, W. D. Anatomy of the skin and the pathogenesis of nonmelanoma skin cancer. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 25, n. 3, p. 283-289, 2017.

LYNCH, C. *et al.* Washing our hands of the problem. **Journal of Hospital Infection**, v. 104, n. 4, p. 401-403, 2020.

MAGILL, S. S. *et al.* Changes in prevalence of health care-associated infections in US hospitals. **New England Journal of Medicine**, v. 379, n. 18, p. 1732-1744, 2018.

MAHENDRA, C. K. *et al.* Model of experimentation for photoprotective properties of natural products against ultraviolet C (UVC) damage: A case study on rosmarinic acid. **Progress in Drug Discovery & Biomedical Science**, v. 2, n. 1, 2019.

MAKEEN, H. A. *et al.* Preparation, characterization, and anti-cancer activity of nanostructured lipid carriers containing imatinib. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 1086, 2021.

MALATEAUX, G.; GAMARRA, R. S.; DIB, L. L.. UV irradiation as a disinfection method to reduce Covid-19 cross-contamination in dentistry: a scoping review. **Online J. Dent. Oral Health**, v. 3, p. 1-5, 2020.

MANSFIELD, K.; NAIK, S. Focus: skin: unraveling immune-epithelial interactions in skin homeostasis and injury. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 93, n. 1, p. 133, 2020.

MARASINI, S. *et al.* Safety and efficacy of UV application for superficial infections in humans: a systematic review and meta-analysis. **The Ocular Surface**, v. 21, p. 331-344, 2021.

MARKOVITSI, D.; GUSTAVSSON, T.; BANYASZ, A. Absorption of UV radiation by DNA: Spatial and temporal features. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 704, n. 1–3, p. 21–28, 2010.

MOHANIA, D. *et al.* Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 996, p. 71–87, 2017.

MORECI, Rebecca S.; LECHLER, Terry. Epidermal structure and differentiation. **Current Biology**, v. 30, n. 4, p. R144-R149, 2020.

MURRAY, Christopher JL *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

NAPOLITANO, N. A.; MAHAPATRA, T.; TANG, W. The effectiveness of UV-C radiation for facility-wide environmental disinfection to reduce health care-acquired infections. **American Journal of Infection Control**, v. 43, n. 12, p. 1342–1346, 2015.

NARITA, K. *et al.* Ultraviolet C light with wavelength of 222 nm inactivates a wide spectrum of microbial pathogens. **Journal of Hospital Infection**, v. 105, n. 3, p. 459–467, 2020.

OLCAY, A. *et al.* A new Far-UVC based method for germ free hospitals and travel: Initus-V. **medRxiv**, p. 2021.04. 23.21255969, 2021.

Organização Mundial da Saúde *et al.* Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide. 2011.

PIIPPONEN, M.; LI, D.; LANDÉN, Ning Xu. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 22, p. 8790, 2020.

PLOYDAENG, M.; RAJATANAVIN, N.; RATTANAEMAKORN, P. UV-C light: A powerful technique for inactivating microorganisms and the related side effects to the

skin. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 37, n. 1, p. 12–19, 2021.

POLARI, L. *et al.* Keratin intermediate filaments in the colon: guardians of epithelial homeostasis. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 129, p. 105878, 2020.

PONNAIYA, B. *et al.* Far-UVC light prevents MRSA infection of superficial wounds in vivo. **PLoS ONE**, v. 13, n. 2, p. 1–12, 2018.

PROTANO, C. *et al.* Hospital environment as a reservoir for cross transmission: Cleaning and disinfection procedures. **Annali di Igiene Medicina Preventiva e di Comunita**, v. 31, n. 5, p. 436–448, 2019.

RAEISZADEH, M.; ADELI, B. A critical review on ultraviolet disinfection systems against COVID-19 outbreak: applicability, validation, and safety considerations. **Acs Photonics**, v. 7, n. 11, p. 2941-2951, 2020.

RODRIGUES, Dayane Otero *et al.* Epidemiology of bacterial contamination of inert hospital surfaces and equipment in critical and non-critical care units: A Brazilian multicenter study. **BioRxiv**, p. 793034, 2019.

ROSENTHAL, V. D. *et al.* An eight-year multicenter study on short-term peripheral intravenous catheter–related bloodstream infection rates in 100 intensive care units of 9 countries in Latin America: Argentina, Brazil, Colombia, Costa Rica, Dominican Republic, Ecuador, Mexico, Panama, and Venezuela. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 42, n. 9, p. 1098-1104, 2021.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Best practices for disinfection of noncritical environmental surfaces and equipment in health care facilities: A bundle approach. **American journal of infection control**, v. 47, p. A96-A105, 2019.

SAKAGAMI, H. *et al.* Prominent anti-UVC activity of lignin degradation products. **in vivo**, v. 36, n. 6, p. 2689-2699, 2022.

SALMINEN, A.; KAARNIRANTA, K.; KAUPPINEN, A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. **Inflammation Research**, v. 71, n. 7-8, p. 817-831, 2022.

SCOTT, Robert; JOSHI, Lovleen Tina; MCGINN, Conor. Hospital surface disinfection using ultraviolet germicidal irradiation technology: A review. **Healthcare Technology Letters**, v. 9, n. 3, p. 25-33, 2022.

SEPTIMUS, E. *et al.* Approaches for preventing healthcare-associated infections: go long or go wide?. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 35, n. 7, p. 797-801, 2014.

SHEN, L. *et al.* Efficacy of UVC-LED in water disinfection on Bacillus species with consideration of antibiotic resistance issue. **Journal of hazardous materials**, v. 386, p. 121968, 2020.

SIES, Helmut *et al.* Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 7, p. 499-515, 2022.

SLINEY, David H.; STUCK, Bruce E. A need to revise human exposure limits for ultraviolet UV-C radiation. **Photochemistry and Photobiology**, v. 97, n. 3, p. 485-492, 2021.

SULLIVAN, E.; GUPTA, Alok; COOK, Charles H. Cost and consequences of surgical site infections: a call to arms. **Surgical infections**, v. 18, n. 4, p. 451-454, 2017.

SUMAN, Rajiv *et al.* Sustainability of coronavirus on different surfaces. **Journal of clinical and experimental hepatology**, v. 10, n. 4, p. 386-390, 2020.

SZABÓ, S. *et al.* An overview of healthcare associated infections and their detection methods caused by pathogen bacteria in Romania and Europe. **Journal of clinical medicine**, v. 11, n. 11, p. 3204, 2022.

TANG, Z. *et al.* Research progress of keratinocyte-programmed cell death in UV-induced Skin photodamage. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 37, n. 5, p. 442-448, 2021.

TORRES, A. E. *et al.* Ultraviolet-C and other methods of decontamination of filtering facepiece N-95 respirators during the COVID-19 pandemic. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 19, p. 746-751, 2020.

UPADHYAY, P. R.; HO, T.; ABDEL-MALEK, Z. A. Participation of keratinocyte-and fibroblast-derived factors in melanocyte homeostasis, the response to UV, and pigmentary disorders. **Pigment cell & melanoma research**, v. 34, n. 4, p. 762-776, 2021.

WANG, S. *et al.* Protective effects of pyridoxamine against UVC-induced programmed cell death in HaCaT cells. **in vivo**, v. 29, n. 3, p. 379-383, 2015.

WEBER, D. J.; ANDERSON, D.; RUTALA, W. A. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 26, n. 4, p. 338–344, 2013.

WEBER, David J. *et al.* Effectiveness of ultraviolet devices and hydrogen peroxide systems for terminal room decontamination: Focus on clinical trials. **American journal of infection control**, v. 44, n. 5, p. e77-e84, 2016.

WOUTERS, B. G. Cell death after irradiation: how, when and why cells die. In: **Basic clinical radiobiology**. CRC Press, p. 21-31 2018.

YADAV, N. *et al.* Skin anatomy and morphology. **Skin Aging & Cancer: Ambient UV-R Exposure**, p. 1-10, 2019.

YOUSEF, H.; ALHAJJ, M.; SHARMA, S. Anatomy, skin (integument), epidermis. 2017.

ZAMAN, A. *et al.* UVC-PURGE: A novel cost-effective disinfection robot for combating COVID-19 pandemic. **Ieee Access**, v. 10, p. 37613-37634, 2022.

ZOU, Yi et al. Dual-function antibacterial surfaces to resist and kill bacteria: Painting a picture with two brushes simultaneously. **Journal of Materials Science & Technology**, v. 70, p. 24-38, 2021.

VILLALPANDO-RODRIGUEZ, Gloria E.; GIBSON, Spencer B. Reactive oxygen species (ROS) regulates different types of cell death by acting as a rheostat. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021.

HUCHZERMEYER, Bernhard et al. Metabolic pathway of natural antioxidants, antioxidant enzymes and ROS providence. *Antioxidants*, v. 11, n. 4, p. 761, 2022.

BRILLO, Valentina et al. Mitochondrial dynamics, ROS, and cell signaling: a blended overview. **Life**, v. 11, n. 4, p. 332, 2021.