MARIA KATIANA SALOMÃO DE ALMEIDA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HIDRODINÂMICO PARA A DESINFECÇÃO DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS UTILIZANDO O OZÔNIO.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

São José dos Campos, dezembro 2019

MARIA KATIANA SALOMÃO DE ALMEIDA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HIDRODINÂMICO PARA A DESINFECÇÃO DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS UTILIZANDO O OZÔNIO.

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação de Mestrado Apresentada ao programa de Pós-graduação em engenharia Biomédica, da Universidade Anhembi Morumbi, como partes dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Profa. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Melo
Co - orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima

São José dos Campos, dezembro/2019

MARIA KATIANA SALOMÃO DE ALMEIDA

DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA HIDRODINÂMICO PARA A DESINFECÇÃO DE MEMBRANAS BIOLÓGICAS UTILIZANDO O OZÔNIO.

Dissertação de Mestrado Apresentada ao programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, da Universidade Anhembi Morumbi, como partes dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Engenharia Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Profa. Dra Lívia Helena Moreira da Silva Mélo

(Orientadora)

Prof. Dr. André Luiz da Silva Mendes

(Membro Externo)

Prof. Dr. Rodrigo Alexis Lazo Osório

(Membro Interno)

São José dos Campos, dezembro 2019

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

MARIA KATIANA SALOMÃO DE ALMEIDA

Enfermeira, formada em 2015 pela Faculdade Estácio de Macapá, Especialista em enfermagem e emergência pela mesma instituição em 2018, atualmente compõe o quadro de funcionários da secretaria estadual de Macapá, trabalhando na atenção Secundária e Terciária de saúde no Hospital de Emergência Osvaldo Cruz em Macapá-AP.

171d Salomão de Almeida, Maria Katiana
Desenvolvimento de sistema hidrodinâmico para a desinfecção de membranas biológicas utilizando o ozônio / Maria Katiana Salomão de Almeida. - 2019.
45f.

Orientador: Lívia Helena Moreira da Silva Melo.
Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica); co-orientador Carlos José Lima - Universidade Anhembi Morumbi, São José Dos Campos, 2019.
Bibliografia: f.41

1. Sistema Hidrodinâmico. 2. Ozônio. 3. Membrana Biológica.

CDD 610.28

DEDICATORIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por ele ser essencial em minha vida, meu guia, alimentou a minha alma com calma e esperança, ao meu pai Ailsom Araújo e a minha mãe Maria José Salomão.

Aprendi, que deveríamos ser gratos a Deus, por não nos dar tudo o que lhe pedimos.

(William Shakespeare).

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado vida, saúde e força para superar as dificuldades, aos meus pais pelo amor e serem meu alicerce aqui na terra, sou grata por todas as orações diárias que vocês me dedicaram.

Aos meus amados irmãos e sobrinhos que me apoiaram com palavras de incentivo e torceram por mim

A minha orientadora e co-orientadores que foram incansáveis em suas orientações, correções e incentivo.

A Universidade Anhembi Morumbi que me concedeu a oportunidade de cursar o mestrado nesta instituição renomada.

A CAPES- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio ao trabalho.

Aos meus amigos que deram o suporte necessário para eu chegar até aqui.

RESUMO

As membranas biológicas vêm atualmente sendo utilizadas na área da saúde em uma ampla variedade de aplicações na clínica-cirúrgica, com o intuito de assegurar a integridade deste material, diversos protocolos de processamento estão continuamente em desenvolvimento. Este trabalho teve o objetivo de desenvolver um dispositivo de desinfecção para material biológico utilizando o sistema hidrodinâmico utilizando água associado aos fluídos gasosos oxigênio e ozônio difundidos neste meio e avaliar a integridade da membrana biológica testada. O protocolo foi testado nos tempos 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos em amostras da membrana peritoneal bovina e avaliadas pela técnica histológica afim de se averiguar possíveis danos nas estruturas do material biológico em função do tempo e tipo de fluído testado. Os resultados indicaram que a partir de 15 minutos com o fluido água-ozônio e a partir de 30 minutos com o fluído água-oxigênio na condição dinâmica comprometeram a integridade biológica do tecido. O dispositivo desenvolvido nas condições que foram testadas evidenciou o tipo de escoamento da condição fluidodinâmica laminar, e apresentou viabilidade técnica no intuito de manter a integridade da membrana biológica.

Palavras-chave: Sistema Hidrodinâmico, Ozônio, Membrana Biológica.

ABSTRACT

Biological membranes are currently being used in the health field in a wide variety of applications in clinical-surgical, in order to ensure the integrity of this material, several processing protocols are continuously under development. This work aimed to develop a disinfection device for biological material using the hydrodynamic system using water associated with the gaseous fluids oxygen and ozone diffused in this medium and to evaluate the integrity of the tested biological membrane. The protocol was tested at times 5, 10, 15, 30, 45 and 60 minutes on bovine peritoneal membrane samples and evaluated by histological technique in order to ascertain possible damage to the structures of biological material as a function of the time and type of fluid tested. The results indicated that after 15 minutes with the water-ozone fluid and after 30 minutes with the water-oxygen fluid in the dynamic condition, the biological integrity of the tissue was compromised. The device developed under the conditions that were tested showed the type of flow of the laminar fluid dynamic condition, and showed technical feasibility in order to maintain the integrity of the biological membrane.

Keywords: Hydrodynamic System, Ozone, Biological Membrane.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema representativo dos regimes de Escoamentos Laminar (A) e Turbulento (B). 16
Figura 2: Esquema demonstrativo a partir de uma descarga elétrica gerando o efeito corona para a produção do gás ozônio em geradores comerciais. 18
Figura 3: Linha de produção das meias-carcaças bovinas no frigorifico de São José dos Campos/SP, seta amarela mostra o peritônio parietal aderido na parede da cavidade abdominal. 22
Figura 4: Na sequência da linha de produção do frigorifico, ocorre a separação das vísceras nas bandejas (seta amarela) onde foi recolhido o peritônio visceral para o estudo. 22

Figura 5: (A) Amostra do peritônio visceral sendo lavado com água destilada para a retirada dos fragmentos e (B) acondicionada em solução fisiológica a 0,9% durante todo o protocolo experimental. 23

Figura 6: Esquema representativo do desenvolvimento do dispositivo em sistema hidrodinâmico utilizando os fluídos: água, oxigênio medicinal e ozônio no tecido biológico. 27

Figura 7: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 5 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3) comparado com os grupos controles correspondentes. 31
Figura 8: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 10 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3). 32
Figura 9: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 15 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3). 33
Figura 10: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 30 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3). 34
Figura 11: Fotos tiradas das lâminas histológicas em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 45 minutos utilizando os fluídos, oxigênio (O_2) e ozônio (O_3), caracterizando as alterações. 35
Figura 12: Fotos tiradas das lâminas histológicas em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 60 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3), caracterizando as alterações. 35

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....11

1.2.*Objetivo Geral*.....12

1.3.*Objetivos específicos*.....12

2. JUSTIFICATIVA.....13

3. HIPÓTESE.....13

4. REVISÃO DE LITERATURA.....14

4.1. *Sistemas hidrodinâmicos*.....14

4.2.*Ozônio*.....16

4.3. *Membrana Biológica (Peritônio)*.....19

4.4.*Microbiota do peritônio em meia carcaça*.....21

5. MATERIAIS E MÉTODOS.....22

5.1. *Amostras*.....22

5.2. *Gerador de Ozônio.*.....23

5.3. *Protocolo Experimental.*.....24

5.4. *Desenvolvimento do dispositivo*.....24

5.5. *Análise histológica*.....25

6.0. RESULTADOS.....27

6.1.*Sistema hidrodinâmico*.....27

6.2. *Resultados da Histologia*.....29

7.0. DISCUSSÃO......37

8.0. CONCLUSÕES.....40

9.0. TRABALHOS FUTUROS.....40

10. REFERÊNCIAS.....41

1. INTRODUÇÃO

As membranas biológicas vêm sendo utilizadas na área da saúde para as mais diversas finalidades, tais como: reparação cirúrgica, desenvolvimento de novos tecidos e nos processos de reparação que restabeleçam a estrutura e a função do órgão atingido (VULCANI et al., 2008). São aplicadas como implantes de natureza orgânica conferindo baixa antigenicidade (ALVARENGA, 1992).

Dentre as membranas biológicas utilizadas, tem-se o peritônio bovino, uma membrana serosa que reveste a cavidade abdominal dos animais, constituída por camada de células mesoteliais achatadas sustentadas por tecido fibroelástico que se unem de acordo com a posição das estruturas subjacentes (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

O peritônio bovino já foi utilizado em estudos experimentais clínico-cirúrgico com resultados satisfatórios, tais como, reparo do tendão calcanear (FREITAS et al., 2010), substituição de fragmento da face ventral da bexiga (OLIVEIRA et al., 2008), artroplastia acetábulo-femoral (RODASKI et al., 2002) e aplicação de tela cirúrgica implantada na parede abdominal (BASTOS et al., 2005).

É um tecido interessante para trabalho porque apresenta a vantagem de fornecer uma grande área de tecido aproveitável e adaptável às diversas situações da prática cirúrgica (BASTOS et al., 2005).

Considerando as vantagens das membranas biológicas utilizadas como próteses, muitos são os trabalhos com protocolos distintos na preparação deste material biológico visando a sua desinfecção e conservação, usando produtos químicos disponíveis no mercado que podem alterar a sua constituição e deixar resíduos (STEENBERGHE et al., 2018).

Das novas tecnologias que surgiram, estudos tem demonstrado o uso do gás ozônio em diversas áreas do conhecimento, no setor industrial (CHIATTONE et al., 2008), área da saúde aplicado em protocolos clínicos terapêuticos (DECLARAÇÃO DE MADRI, 2010), controle de parasitas (FIGUEIREDO et al., 2018), desinfecção de equipamentos clínico-hospitalares (MARSON et al., 2016), e dependendo da concentração utilizada o gás apresenta ação microbicida apresentando a vantagem de não gerar resistência microbiana,

técnica sem deixar resíduos no ambiente e seguro quando administrado com as normas de segurança (BOCCI, 2005).

Pensando num protocolo de desinfecção para membranas biológicas com características ecológicas, ou seja, que não deixassem resíduos no material biológico testado e no ambiente, o propósito deste trabalho foi de desenvolver um sistema hidrodinâmico a base de água com a adição dos fluídos gasosos oxigênio e ozônio difundidos no meio aquoso com o intuito de desinfecção do material biológico. Assim, para que o processo de desinfecção ocorresse no material biológico, houve a necessidade primeiramente de desenvolver um dispositivo hidrodinâmico adaptado para materiais biológicos e avaliar o seu funcionamento em determinados períodos de exposições e observar se alterariam as características morfológicas da membrana estudada.

1.1. Objetivo Geral

Desenvolver um dispositivo hidrodinâmico utilizando os fluídos, água, oxigênio e ozônio para ser aplicado na membrana biológica.

1.2. *Objetivos Específicos*

a) Determinar o tipo regime de escoamento hidrodinâmico do dispositivo desenvolvido e o melhor fluído testado para manter a integridade da membrana biológica;

b) Verificar a integridade da membrana biológica após ser submetida ao sistema proposto em diferentes tempos testados através da análise histológica.

2. JUSTIFICATIVA

Estudos que envolvem cirurgias reconstrutivas tendem a utilizar variadas membranas biológicas e estas são lavadas em diferentes soluções, tais como, soluções fisiológicas, glicerina a 98%, solução alcoólica de tiomersal, álcool absoluto, vaselina, glutaraldeído, solução supersaturada de açúcar a 300%, polivinil pirrolidona a 5% e antimicrobianos com a finalidade de conservação e redução da carga microbiana presente nos tecidos (WELLS et al., 2006). No entanto, o uso destes compostos químicos nem sempre são eficientes na redução da carga microbiana, podendo inclusive a induzir o fenômeno da resistência microbiana, além de ser necessário o descarte especial destes produtos após o seu uso. Com base nestas informações que no presente estudo houve a necessidade em desenvolver um dispositivo em sistema hidrodinâmico sem deixar resíduos no ambiente e na membrana tratada que utilizassem os fluídos: água, oxigênio e ozônio como agente microbicida visando técnicas futuras de desinfecção.

3. HIPOTESE

O dispositivo hidrodinâmico desenvolvido no presente estudo pode ser empregado no processamento de membranas biológicas sem alterar a integridade da membrana biológica?

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. *Sistemas hidrodinâmicos*

Os sistemas hidrodinâmicos há muito vêm sendo utilizados em estudos que envolvem recursos naturais como a água. Os modelos hidrodinâmicos são bastante empregados no estudo de escoamentos de cursos d'águas naturais, principalmente quando há regimes turbulentos e não-permanentes (SILVEIRA, 1986).

Pode-se dizer que os modelos hidrodinâmicos são modelos matemáticos que empregam as equações da continuidade e dinâmicas ou equações de Saint Venant. As equações de Saint Venant referem-se a um conjunto de funções que descrevem o movimento geral das substâncias fluídas, tais como líquidos e gases (FOX; MCDONALD, 1998).

No momento em que a força de cisalhamento atua no sentido de deslocar uma camada de líquido sobre outra adjacente, existe uma força de coesão entre as camadas que se opõe a esse movimento, esta coesão, que é uma forma de atrito interno entre camadas do líquido chama-se viscosidade (SILVA,1977).

No ano de 1883, Osborne Reynolds publicou um estudo com o objetivo de estabelecer uma lei para a resistência ao escoamento de água em tubos (ROMA, 2003). Esse estudo sobre a estrutura dos escoamentos posteriormente ficou conhecido como Experimento de Reynolds, demonstrando com o experimento que consistiu na aplicação de corante líquido na posição central de um escoamento de água interna em tubo circular de vidro transparente (ROMA, 2003).

Reynolds realizou experimentos a partir da hidrodinâmica em dois equipamentos distintos. O primeiro consistiu em visualizar o movimento das partículas fluídas para se identificar o aparecimento de turbilhonamento. O segundo objetivou medir as resistências e velocidades dos escoamentos para tubulações de diferentes diâmetros, utilizando água com diferentes temperaturas, ou seja, mudando a viscosidade do fluído. Com os resultados obtidos no primeiro experimento mostraram que quando as velocidades eram suficientemente pequenas a linha de tinta permanecia reta e se estendia ao longo do tubo. À medida que se aumentava a velocidade observou-se a presença

intermitente de turbilhões que apareciam repentinamente em um certo trecho do tubo, sempre a uma distância considerável da entrada, e desapareciam logo depois, sem periodicidade definida (REYNOLDS,1883).

Compreendeu-se por linha de escoamento, o trajeto em movimento que um elemento fluído percorre, assim, a velocidade do elemento varia em módulo e direção, ao longo de sua linha de escoamento. Se cada elemento que passa por um ponto tiver a mesma linha de escoamento dos precedentes, o escoamento é denominado estável. Os escoamentos são classificados de acordo com a velocidade em concomitância com o comportamento das moléculas de fluído que adotaram um padrão de movimento denominado estrutura interna (CARVALHO, 2002).

Há dois tipos de escoamento; Escoamento Laminar e Escoamento Turbulento. O escoamento laminar ocorre quando as partículas de um fluído se movem ao longo de trajetórias bem definidas, apresentando lâminas ou camadas, cada uma delas preservando sua característica no meio, no escoamento laminar a viscosidade age no fluido no sentido de amortecer a tendência de surgimento da turbulência. Este escoamento ocorre geralmente a baixas velocidades e em fluídos que apresentem grande viscosidade (RODRIGUES, 2005).

No escoamento turbulento há um movimento de trajetória irregular comum na água, cuja viscosidade é relativamente baixa. As partículas não permanecem em camadas, se movem de forma heterogênea através do escoamento, escorregando sobre algumas e colidindo com outras de modo inteiramente caótico e em distâncias curtas em todas as direções (RODRIGUES; 2005).

O experimento de Reynolds foi determinante para a compreensão dos escoamentos em condutos cilíndricos circulares, para tanto, considerou-se um valor que associa as grandezas diâmetro (D), velocidade (v) e a viscosidade cinemática (μ), quando o fluído passa de escoamento laminar para o escoamento turbulento, e este valor é um parâmetro conhecido como número ou coeficiente de Reynolds . A equação 1 expressa o cálculo para o coeficiente de Reynolds, responsável pelo regime de escoamento do fluído:

$$Re = \frac{\rho . v . D}{\mu}$$

Onde:

Re – número adimensional de Reynolds;

ρ - massa específica do fluido (kg/m^3);

v - velocidade média do escoamento (m/s);

D - Diâmetro do tubo (m);

μ - viscosidade do fluído (N.s/m^2).

Os escoamentos são classificados de acordo com os resultados do coeficiente de Reynolds (Re) resultante da equação (ÇENGEL; CIMBALA, 2007), assim:

Re ≤ 2300 – Escoamento Laminar

2300 ≤ Re ≤ 4000 – Regime de Transição

Re ≥ 4000 – Escoamento Turbulento

Os esquemas representativos da figura 1 caracterizam os dois tipos de escoamentos: laminar e turbulento.

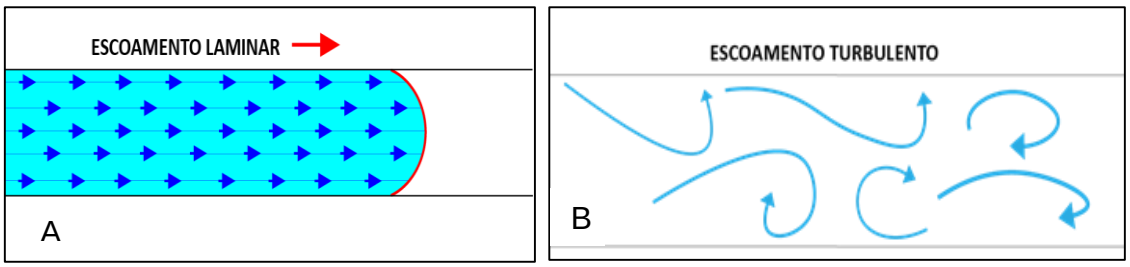


Figura 1: Esquema representativo dos dois regimes de escoamentos: (A) Laminar e (B) Turbulento. Fonte (A) https://www.infoescola.com/mecanica-de-fluidos/tipos-de-fluxos-e-escoamentos; B- Adaptado de: https://www.engquimicasantossp.com.br/2013/10/numero-de-reynolds.html.

4.2 Ozônio

O ozônio é uma molécula natural gasosa composta por três átomos de oxigênio sendo muito instável. Christian Friedrich Schonbein descobriu o ozônio em 1840, trabalhando com uma pilha voltaica na presença de oxigênio quando

percebeu o surgimento de um gás com um "forte cheiro elétrico e pungente" que descreveu como um tipo de "oxigênio super-ativo” (BOCCI, 2005).

O ozônio gasoso é gerado naturalmente como produto de reações fotoquímicas na estratosfera terrestre e pode ser obtido artificialmente, por meio de diversas técnicas empregando-se descargas elétricas. Entre estes processos para se obter ozônio, o mais empregado comercialmente é a descarga corona que consiste na passagem do gás oxigênio através de dois eletrodos separados, onde se aplica tensão que varia de 8 a 20 kV (SOARES, 2007).

O processo artificial da produção do ozônio ocorre em um reator, constituído principalmente por dois eletrodos a base de aço inoxidável, entre estes há uma distância específica de separação, em que neste vão existe um fluxo de gás oxigênio, como nestes dois terminais metálicos já citados é aplicado um potencial elétrico de altíssima intensidade (8 a 20KVolts), há a presença de um fluxo partículas elétrons que resulta na emissão de radiação de luz ultravioleta, uma pequena faixa espectral desta radiação centrada em λ= 260nm, apresenta energia compatível que permite a dissociação de moléculas de oxigênio (O_2), neste sentido boa parte destes íons gerados irão se agregar a outras moléculas de O_2 gerando desta maneira o gás ozônio (O_3) com a estrutura tri-atômica de átomos de oxigênio, (SCHIAVON, 2013).

Uma vez estabelecida a molécula do ozônio, sua estabilidade é improvável uma vez que o terceiro átomo (íon) acoplado durante a geração do O_3, este apresenta uma ligação mais fraca em comparação com os outros dois átomos de O_2 da estrutura molecular, quando este radical se dissocia da molécula O_3, resulta na formação novamente do O_2 e a liberação do íon que poderá se associar a alguma outra molécula, podendo ser esta proveniente de uma estrutura orgânica que compõe por exemplo a membrana de um microorganismo, neste sentido, considerando sucessivas etapas repetitivas como citado anteriormente, produzirá como consequência a morte desta célula.

Os geradores de ozônio apresentam melhor eficiência quando alimentados por oxigênio medicinal (SCHIAVON, 2013), conforme apresentado no esquema da figura 2.

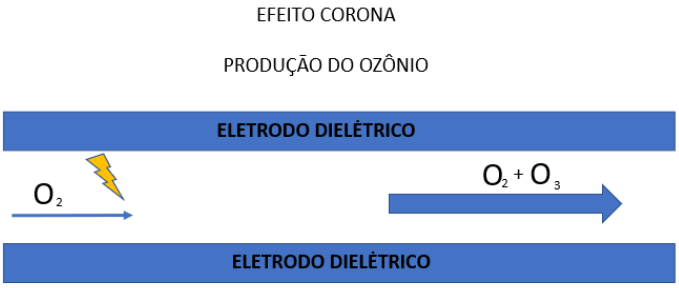


Figura 2: Esquema demonstrativo a partir de uma descarga elétrica gerando o efeito corona para a produção do gás ozônio em geradores comerciais.

O ozônio é amplamente empregado no tratamento de água potável, água de piscina, água proveniente de poços artesianos, minas, caixas d'água residenciais e comerciais, água de chuva reusada, aquários de água doce e salgada, na higienização de recipientes de envase de água, na desodorização de ambientes, em lavadores de gases, torres de resfriamento, piscicultura, na agricultura em hidroponia, assim como no tratamento de efluentes domésticos e industriais, com ênfase em efluentes oriundos de tinturarias e lavanderias, que apresentam maior quantidade de carga orgânica (BONCZ, 2002).

Estudos utilizando água ozonizada demontraram que o ozônio pode ser de grande importância no combate a diversos microorganismos. Esta solução foi até utilizada no tratamento de feridas eliminando os exsudatos e materiais necróticos facilitando o processo cicatrização do tecido (BOCCI, 2005).

Ferreira (2017) avaliou o efeito do gás ozônio dissolvido na água, em diferentes condições e combinações, sobre microorganismos deteriorantes e patogênicos, avaliando os possíveis efeitos na qualidade físico-química de morangos armazenados e concluíram que a água ozonizada foi eficiente no controle dos microorganismos e na qualidade físico-química da fruta armazenada.

Anumula et al. (2017) estudaram a eficácia microbicida da água ozonizada como alternativa de enxaguatório bucal em comparação à clorexidina. Ao final do experimento comprovou-se que a água ozonizada foi mais eficiente do que a clorexidina na eliminação do *Streptococcus mutans.* Nos estudos de Fonseca et al. (2015) utilizaram a água ozonizada para a desinfeção de cureta odontológica

onde foram submersas na água contendo ozônio. O efeito microbicida foi avaliado e os resultados mostraram que o ozônio diluído em água foi capaz de induzir uma redução microbiana significativa com a eliminação do agente etiológico da cárie dentária.

Fonseca et al. (2019) avaliaram os possíveis danos induzidos pela água ozonizada no *Streptococcus mutans* e demonstraram uma redução significativa na viabilidade da parede microbiana com o ozônio, induzindo danos significativos na bactéria cariogênica, sugerindo que o uso de água ozonizada como preventivo para a formação de lesões cariosas seria extremamente promissor.

A água ozonizada também já foi empregada na desinfecção de equipamentos para diagnóstico médico, como o endoscópio nos estudos de Marson et al. (2016). Neste estudo os autores fizeram um comparativo da eficiência entre a água ozonizada e a técnica convencional comumente utilizada aplicando o glutaraldeído a 2%, e concluíram com o uso da dosagem de 330 $mg.min.L^{-1}$ induziu uma redução de 2 log dos microorganismos sob as condições testadas resultado similar ao observado com o glutaraldeído. Neste sentido, a água ozonizada apresentou um potente efeito desinfetante, sugerindo ser uma alternativa viável para a desinfecção destes materiais (MARSON et al., 2016).

A lavagem com água ozonizada tem se tornado popular devido à sua alta eficácia em amplo espectro antimicrobiano sem gerar resistência e resíduos ambientais (KIM, 2000).

4.3 Membrana Biológica (Peritônio)

O peritônio é a membrana de proteção serosa mais extensa do organismo, dividido em parietal quando reveste a parede da cavidade abdominal, e visceral quando está relacionada diretamente com os órgãos abdominais; ambos são contínuos e suas reflexões, denominam-se mesos, ligamentos e omentos, as quais mantém a estática visceral (FRANDSON et al., 2005).

O peritônio na cavidade abdominal conecta e suporta órgãos internos, e é composto por muitas dobras que passam entre ou ao redor de vários órgãos. Duas dobras são de primordial importância: o omento, que fica pendurado na frente do estômago e do intestino; e o mesentério, que liga o intestino delgado e

grande parte do intestino grosso à cavidade abdominal posterior (COFFEY; O'LEARY, 2016).

O peritônio é composto por uma camada celular mesotelial, que se assenta sobre a lâmina basal, a qual é sustentada por tecido conjuntivo que contém fibras colágenas e elásticas, possibilitando mobilidade em grau variado (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O peritônio animal é comumente utilizado como membrana sendo conservado em glicerina a 98% sob temperatura ambiente, evitando gastos excessivos com produtos químicos e de fácil manipulação (BASTOS et al., 2005).

Os experimentos com membranas biológicas em sua maioria são tratados com glicerina pelo fato deste ser um agente fixador e desidratante dotada de propriedades antissépticas, com amplo espectro de ação exceto sobre formas bacterianas esporuladas, a textura do material fica preservada, bem como seu grau de elasticidade e resistência (DALECK et al., 1988).

Pesquisas apontam que vários estudos foram desenvolvidos em busca de um meio alternativo de conservação que apresentassem características desidratantes, antissépticas e anti-imunogênicas semelhantes ou superiores à glicerina. Para tal finalidade foram testadas, solução hipersaturada de açúcar (MOTA et al. 2002), álcool absoluto, vaselina, glutaraldeído; solução alcoólica de timerosal (1:1000), polivinil pirrolidona a 5% (ALVARENGA, 1992; NOLASCO et al., 2003).

Os meios de preservação utilizados para manter as membranas biológicas devem possuir alto poder estabilizador impedindo a total decomposição dos tecidos e crescimento de microorganismos, mas devem preservar ao máximo a integridade celular aumentando a resistência à tração dos tecidos por um período prolongado (GUIMARÃES et al., 2007).

As membranas biológicas conservadas em meio de preservação quando forem utilizadas, as mesmas permanecem submersas em solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% acrescida de antibiótico por um período de 20 a 30 minutos, este procedimento tem por finalidade assegurar a esterilização e reidratação da membrana tornando-a mais maleável para facilitar seu manuseio (ALVARENGA, 1992).

4.4 Microbiota do peritônio em meia-carcaça

Nos frigoríficos mesmo com os mais diversos procedimentos higiênicos necessários para a manipulação da carne, no ato da matança dos animais são elevados os riscos de contaminação. A contaminação pode ocorrer em todas as operações de abate, armazenamento e distribuição e sua intensidade depende da eficiência das medidas higiênicas adotadas (ROÇA, 2004).

O processo de chegada dos animais aos matadouros e frigoríficos é um procedimento longo que exige higiene e cuidado, devendo serem abatidos aos animais que apresentam boas condições físicas (ROÇA, 2004). Grande parte da contaminação microbiana em carcaças de animais provém da pele e do trato gastrointestinal resultante de falhas operacionais ocorridas principalmente nas etapas iniciais do processo de abate, tais como, a esfola e a evisceração. (BARROS et al., 2007).

A carne recém-abatida tem uma microbiota diversificada, formas cocóides representadas por *Micrococcus* e *Staphylococcus*, mas pode-se encontrar microorganismos bastonetes, Gram-negativos e Gram-positivos, não esporulados e esporulados, tais como, *Pseudomonas, Achromobacter, Aeromonas, Escherichia, Enterobacter, Proteus, Salmonella*, *Lactobacillus, Microbacteria, Arthrobacter, Bacillus* e *Clostridium* (NOSKOWA, 1972).

Além dos riscos inerentes às etapas do processamento, pode ocorrer ainda a contaminação cruzada através do contato com equipamentos, instalações e manipuladores (BORCH; ARINDER, 2002).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. *Amostras*

O peritônio bovino visceral foi coletado no frigorífico em São José dos Campos/SP em até 30 minutos após o abate do animal, este período foi determinado para manter as condições de integridade do tecido após o abate (figura 3).

Após o peritônio visceral ser recolhido (figura 4) as amostras foram armazenadas em frascos estéreis em caixas isotérmicas com gelo reciclável e enviadas ao Laboratório de Desinfecção e Esterilização da CITÉ/UAM.

Figura 3**:** Linha de produção das meias-carcaças bovinas no frigorifico de São José dos Campos/SP, seta amarela mostra o peritônio parietal aderido na parede da cavidade abdominal.

Figura 4: Na sequência da linha de produção do frigorifico, ocorre a separação das vísceras nas bandejas (seta amarela) onde foi recolhido o peritônio visceral para o estudo.

No laboratório, as amostras foram lavadas com água destilada para a retirada dos fragmentos, e acondicionadas em solução fisiológica a 0,9% durante todo o período experimental (figura 5 A, B).

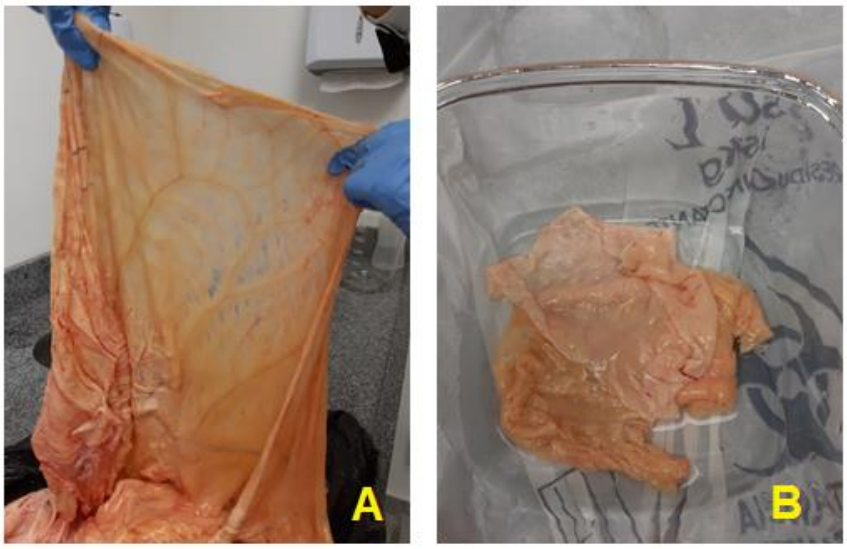


Figura 5**:** (A) Amostra do peritônio visceral sendo lavado com água destilada para a retirada dos fragmentos e (B) acondicionada em solução fisiológica a 0,9% durante todo o protocolo experimental.

Após a limpeza, as amostras foram cortadas e coladas com cianoacrilato (superbonder®) no porta amostra de tecido biológico que foi confeccionado em aço inoxidável, em geometria retangular para esta finalidade.

5.2. *Gerador de Ozônio*

Foi utilizado para o experimento o gerador de ozônio (O & L 1.5 RM, Ozone & Life, Brasil) que através do efeito corona produziu o gás ozônio (O_3) mediante o fluxo de 1/8 L/min de O_2. Nas amostras tratadas apenas com o fluido oxigênio medicinal (O_2) utilizou-se o mesmo fluxo (1/8 L/min).

5.3. *Protocolo Experimental*

As amostras de peritônio visceral bovino foram divididas em três grupos experimentais de acordo com o tipo de fluído e o tempo de exposição a ser testado, conforme apresentados na tabela 1:

Tabela 1: Distribuição dos grupos experimentais de acordo com o tempo de exposição e o tipo de fluído utilizado no sistema hidrodinâmico.

Grupo Água (GA)	Grupo Oxigênio (GO_2)	Grupo Ozônio (GO_3)
GAC- Controle sem exposição;	GO_2C - Controle sem exposição;	GO_3C - Controle sem exposição;
GA5 –5 minutos	$GO_2$5 - 5 minutos	$GO_3$5 - 5 minutos
GA10 – 10 minutos	$GO_2$10 - 10 minutos	$GO_3$10 - 10 minutos
GA15 – 15 minutos	$GO_2$15 - 15 minutos	$GO_3$15 - 15 minutos
GA30 – 30 minutos	$GO_2$30 - 30 minutos	$GO_3$30 - 30 minutos
GA45 – 45 minutos	$GO_2$45 - 45 minutos	$GO_3$45 - 45 minutos
GA60 – 60 minutos	$GO_2$60 - 60 minutos	$GO_3$60 - 60 minutos

5.4. *Desenvolvimento do dispositivo*

O sistema desenvolvido foi baseado em um circuito hidrodinâmico fechado para a transferência de massa oxigênio medicinal-água e ozônio-água, utilizando para tal um misturador. O sistema proporcionou a conexão entre suas partes através de mangueiras de silicone atóxico e conectores em aço inoxidável ou fluopolímeros devido à resistência/compatibilidade destes materiais ao gás ozônio.

O porta amostra com o tecido biológico foi acondicionado sob pressão mecânica na posição central e vertical no interior do cilindro de vidro de borosilicato com área útil de 3,8 cm^2 proporcionando em seu interior uma capacidade de 50 mL de água corrente.

O controle da vazão de água circulante foi obtido mantendo-se regulada a tensão elétrica de alimentação da mini- bomba, sendo está ajustada e fixada para operar na vazão de 35 mL/s, sendo a mini-bomba alimentada com tensão de 4,0 Vcc. A vazão volumétrica de água proporcionada nessa condição foi de 2100 cm^3/min com uma velocidade do fluido da ordem de 0,92 m/s.

A temperatura da água foi constantemente aferida pelo eletrodo do medidor de ozônio, mantendo o fluido a 25°C e o pH checado através de papel indicador de pH (MColorpHast, Merck, Alemanha) no início e após cada processo.

No interior do cilindro foi posicionado o tecido biológico no porta amostra, e após este, o fluído foi disposto continuamente a um reservatório retangular em aço inox com capacidade de 1000 mL, retornando por último o fluído à bomba centrífuga no ciclo de circuito fechado.

Na entrada do reservatório foi posicionado um analisador da concentração de ozônio na água, visando à medição da concentração em tempo real deste gás no meio aquoso durante os períodos de ozonização, através do medidor analítico de ozônio (TIZ-OEM, Anseros, Alemanha) realizando continuamente a medição do ozônio residual e a temperatura da água. O princípio físico deste sensor se baseia no método de amperometria potenciostática, assim, a leitura foi realizada apenas com os fluidos em circulação. O procedimento foi mensurado apenas no grupo onde se utilizou o fluido água-ozônio.

O gerador de ozônio, baseado na produção do gás via efeito de descarga corona, sob o fluxo de oxigênio 1/8 L/min produziu ozônio e a concentração de ozônio foi estabilizada na água ao longo da ozonização em 1 mg/L.

O sistema compreendeu um cilindro com oxigênio medicinal (21% oxigênio; 99,5% v/v de pureza; 1072, Linde Gases, Brasil), que foi acoplado a uma válvula mecânica reguladora de fluxo (ME540, Medsease, China) fixado na vazão de 1/8 L/min fornecendo o fluxo de oxigênio diretamente a entrada do gerador de ozônio usado. A saída do gerador de ozônio foi conectada à entrada de gás do misturador.

5.5. *Análise histológica*

Em todos os grupos experimentais, nos seus respectivos tempos, foram retirados três fragmentos da membrana peritoneal após os experimentos e armazenados em frascos com formaldeído a 10% e enviados ao laboratório de histopatologia.

As amostras foram processadas conforme a rotina laboratorial e coradas com hematoxilina-eosina (HE). Para as análises foi utilizado o microscópio óptico (TNB-01T, Anatomic, Brasil) para aquisição das imagens fotográficas utilizando as objetivas de 10x e 40x padronizado para todas as lâminas.

Foram realizadas comparações histológicas entre os grupos testados nos diferentes períodos para se avaliar possíveis alterações histológicas das amostras do peritônio bovino.

6.0. RESULTADOS

6.1 *Sistema hidrodinâmico*

As amostras de todos os grupos testados foram acondicionadas no porta amostra e o processo com os fluídos (água, O_2 e O_3). ocorreram conforme esquema apresentado na Figura 6:

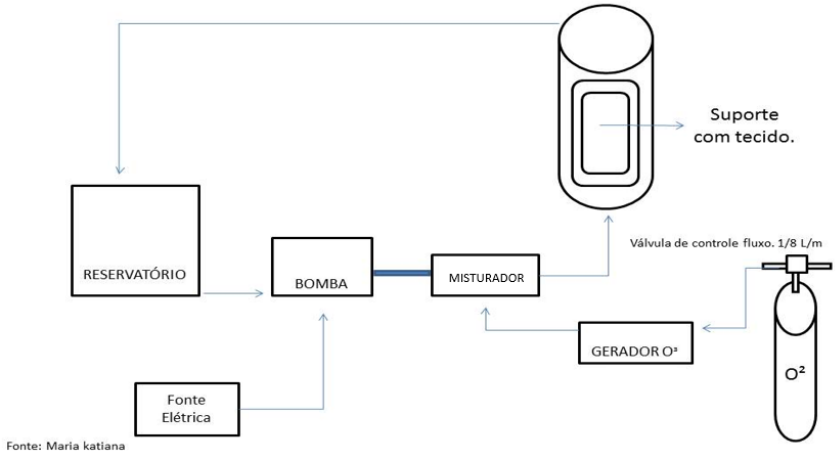


Figura 6: Esquema representativo do desenvolvimento do dispositivo em sistema hidrodinâmico utilizando os fluídos água, oxigênio medicinal e ozônio no tecido biológico.

Neste experimento avaliou-se o movimento dinâmico das moléculas do fluido líquido, uma vez que dependendo da velocidade, a trajetória da água pode ser retilínea (laminar) ou em movimentos aleatórios não retilíneos (turbulento). Quando é retilíneo, há uma completa remoção do material da superfície do tecido, mas isso depende do tempo da velocidade da energia, nesse sentido é primordial o teste utilizando o tecido biológico no sistema para verificar em quanto tempo o tecido pode permanecer integro. Essa energia cinética é responsável pela remoção residual do tecido.

O procedimento de mensuração da vazão do sistema se realizou através da bomba d'água centrífuga em movimentação, onde na saída desta realizou-se a injeção da água dentro de uma coluna de vidro graduada, atuando simultaneamente junto a um cronômetro digital.

A vazão que se obteve com a medição na água nos três grupos experimentais foi de 2100 mL/min ou 2,1 L/min. Sendo essa a vazão a operacional do sistema. Na equação 2 apresentou-se a Vazão (Q, em mL/min

ou L/min) em função do volume (v, em mL ou litro) por unidade de tempo (minutos).

- Fórmula da vazão

$$Q' = \frac{\text{Volume}}{Tempo}$$

$$\boldsymbol{Q' = 35ml/s}$$

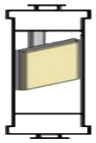
O diâmetro interno do tubo de vidro, onde foi posicionada a amostra biológica apresentou-se o valor de 2,2 cm (D). Desta forma, calculou-se a área da secção transversal do duto de vidro.

- Cálculo da área do duto de vidro:

$$A = \pi.\frac{D^2}{4}$$

$$A = 3{,}8\ cm^2$$

- Velocidade da água no duto de vidro:



$$D = 22mm\ ou\ 2{,}2\ cm\ V = \frac{Q'}{A}$$

$$V = 552{,}6\frac{cm}{60}$$

$$V = 9{,}2\ cm/s$$

Dada a velocidade, tornou-se necessário o valor do coeficiente de Reynolds para assim determinar qual o regime de escoamento do fluído.

- Cálculo do número de Reynolds.

$$\text{Re} = \frac{\rho .v. D}{\mu}$$

$$\text{V} = 9{,}2\frac{cm}{s} = V = 0{,}092m/s$$

$$D = 2{,}2cm = D = 0{,}022m$$

$$Re = \frac{\rho.v.d}{\mu}$$

$$Re = \frac{1000\ \text{x}\ 0{,}092\ \text{x}\ 0{,}022}{1{,}0030\ \text{x}\ 10\text{E} - 3}$$

$$Re = \frac{2{,}024}{1{,}0030\ \text{x}\ 10\text{E} - 3}$$

$$Re = 2018\ Escoamento\ Laminar$$

Assim, o dispositivo desenvolvido operou no regime de escoamento do tipo laminar, pois em comparação ao limite máximo de Reynolds para o laminar valendo 2000, o percentual adicional resulta em 0,9%.

Espera-se que a energia cinética de movimento das moléculas da água gerada pelo escoamento forçado da bomba centrífuga produza o arrasto dos resíduos da superfície da membrana, incluindo material microbiano sedimentados sobre a superfície do tecido peritoneal, associado a ação simultânea do gás ozônio no sistema associado ao misturador, faz-se nesta condição a remoção dos microorganismos depositados sobre a amostra biológica, transferindo-os para a água onde sofreriam a ação microbicida do ozônio.

6.2 *Resultados da Histologia*

Com a movimentação das moléculas no sistema hidrodinâmico, estas poderiam causar atrito sobre a superfície do tecido estudo em decorrência do tempo de exposição aos fluidos testados ocasionando alterações nos tecidos, daí a importância de se avaliar histologicamente os possíveis danos para conhecer o tempo limite devido o atrito dos fluidos testados na superfície da membrana, dados apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Resultados da observação histológica do peritônio bovino expostos a diferentes fluídos no sistema hidrodinâmico em circuito fechado.

	Estruturas histológicas		
Grupos	Epitélio pavimentoso simples	Lâmina Própria do tecido	Tecido Adiposo
GAC	+	+	+
GA5	+	+	+
GA10	+	+	+
GA15	+	+	+
GA30	+	+	+
GA45	+	+	+
GA60	+	+	+
GO_2C	+	+	+
GO_25	+	+	+
GO_210	+	+	+
GO_215	+	+	+
GO_230	-	A	A
GO_245	-	A	A
GO_260	-	A	A
GO_3C	+	+	+
GO_35	+	+	+
GO_310	+	+	+
GO_315	-	A	A
GO_330	-	A	A
GO_345	-	A	A
GO_360	-	A	A

Legenda: (+) presente, (A) Alterado, (-) ausente.

Com a finalidade de melhor comparação entre os grupos testados, as amostras histológicas foram comparadas pelo tempo de exposição nos três fluídos (água, oxigênio e ozônio). As imagens serão apresentadas nas figuras 7, 8, 9, 10, 11, 12.

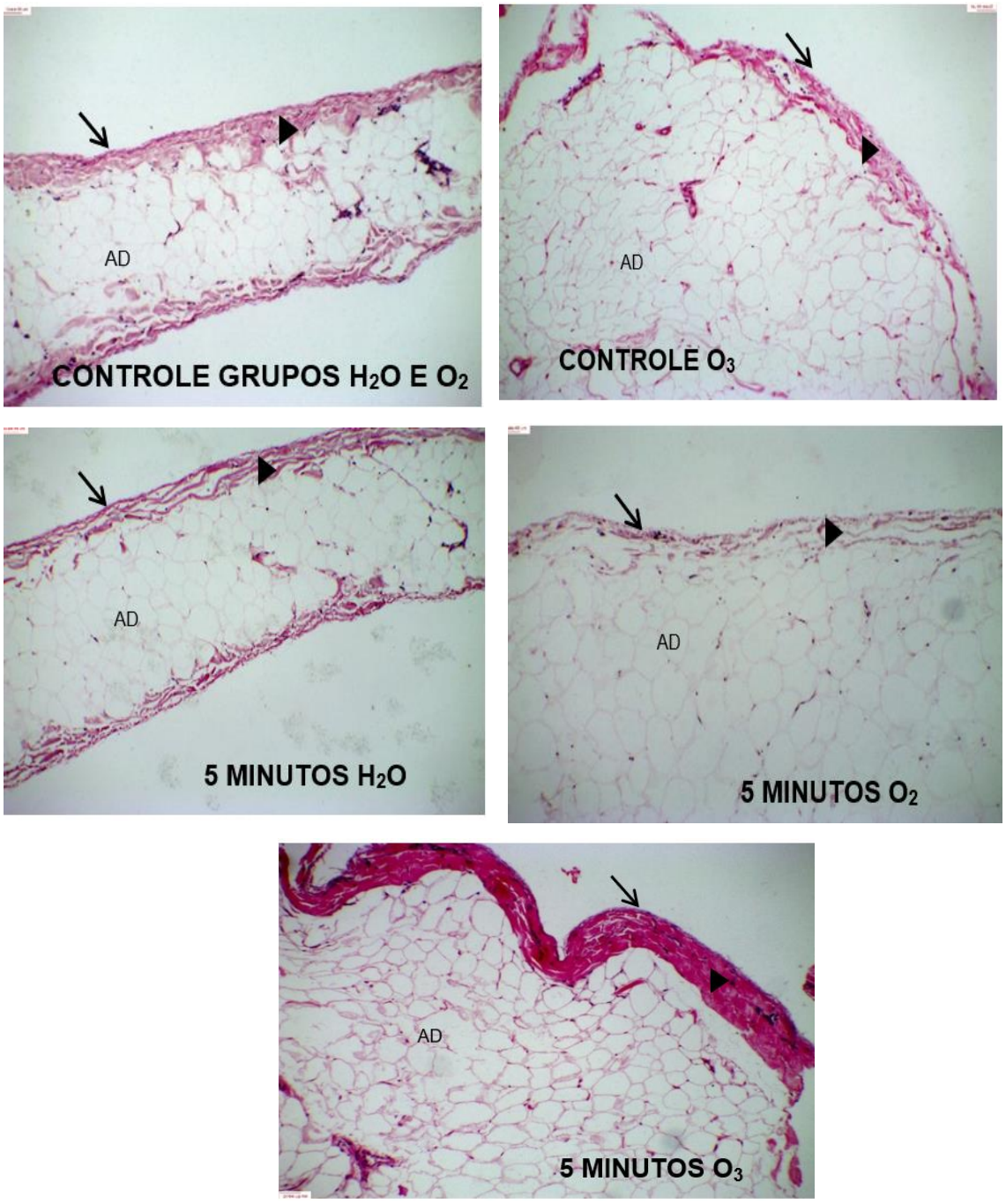


Figura 7: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 5 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3) comparado com os grupos controles correspondentes.

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

Observou-se que em todos os grupos experimentais de 5 minutos estavam correspondentes aos seus grupos controles, apresentando o epitélio pavimentoso simples, lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito e tecido adiposo com adipócitos uniloculares sem alteração visíveis histologicamente.

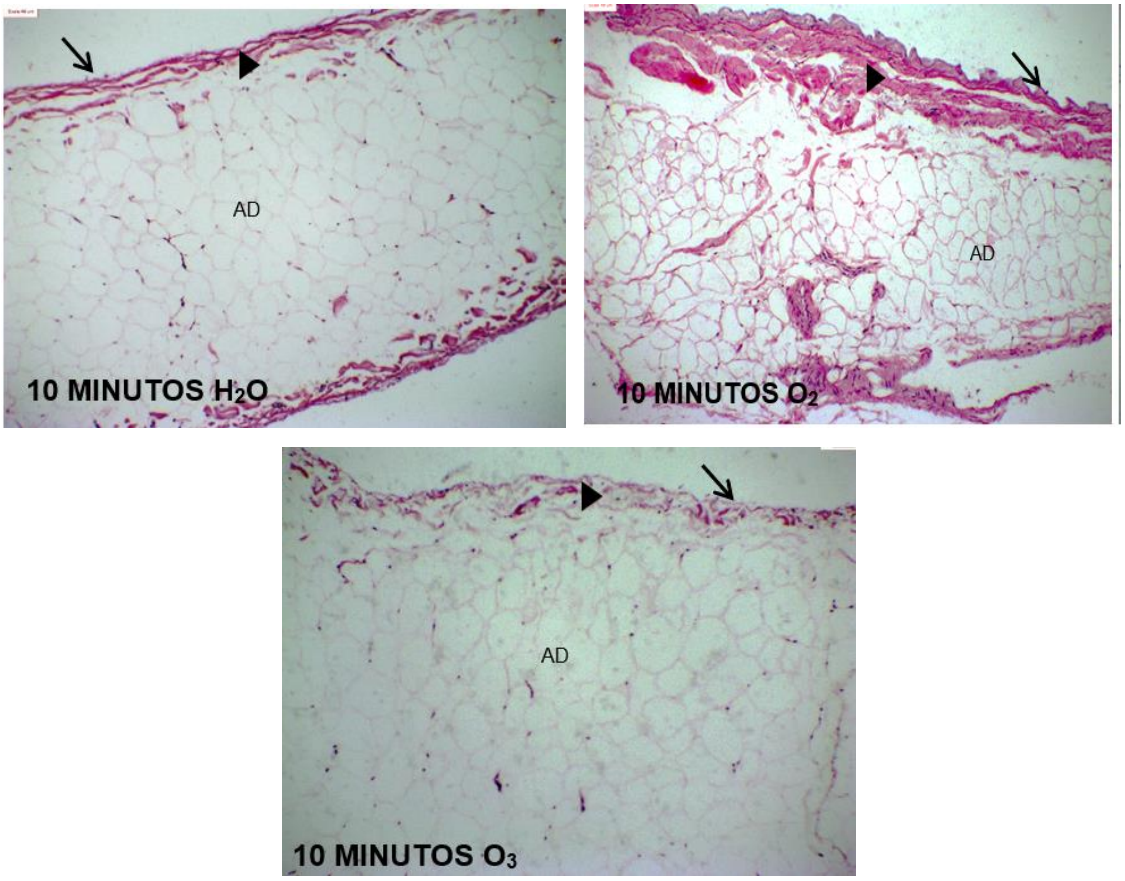


Figura 8: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 10 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3).

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

Nos grupos testados no tempo de 10 minutos observou-se as mesmas características dos grupos controles e testados por 5 minutos, ou seja, nenhuma alteração do tecido nos três grupos estudados.

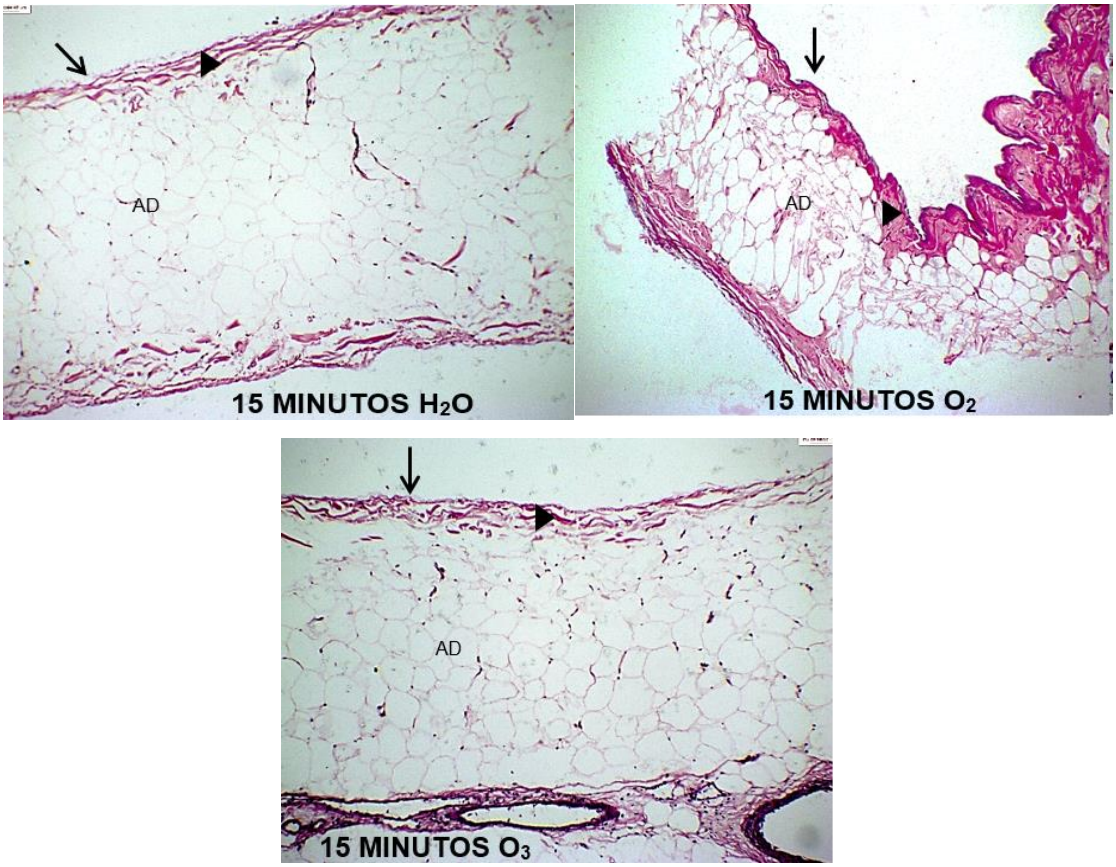


Figura 9: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 15 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3).

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

Nos grupos testados com o tempo de 15 minutos, observou-se as mesmas características dos grupos controles nos fluídos água e oxigênio, porém no grupo fluído ozônio testado por 15 minutos observou-se perda do epitélio pavimentoso simples, com desorganização das fibras do tecido conjuntivo propriamente dito da lâmina própria e desarranjo do tecido conjuntivo com pequenas alterações do tecido adiposo.

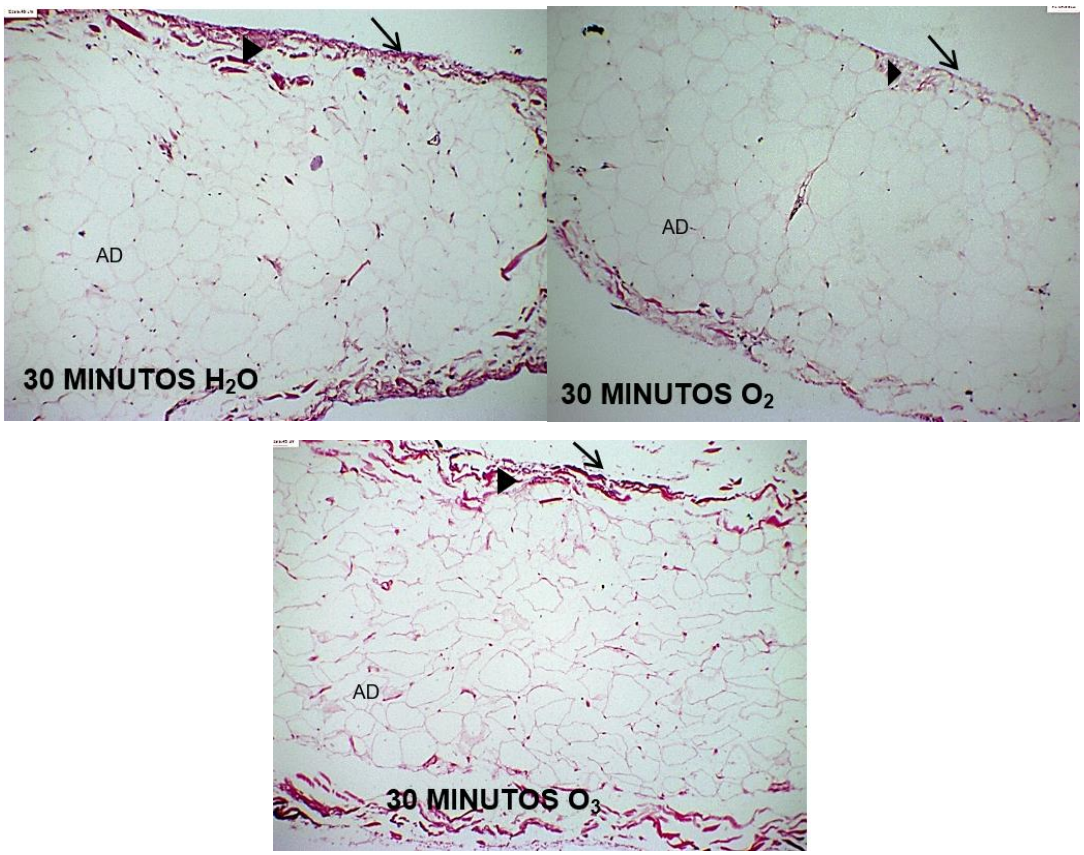


Figura 10: Fotos tiradas das lâminas histológicas de cada grupo de estudo em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 30 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3).

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

No grupo fluído água no período de 30 minutos não foi observado alterações no tecido, mantendo as características observadas nos tempos anteriores, ou seja, controle, 5, 10, 15 minutos, mantendo-se íntegros.

No grupo fluído oxigênio testado por 30 minutos observou-se destruição do epitélio pavimentoso simples, desorganização das fibras do tecido conjuntivo propriamente dito da lâmina própria e tumefação celular nos tecidos adipócitos (AD). No grupo fluído ozônio testado por 30 minutos observou-se que as alterações estavam em maior grau conforme descritas no tempo de 15 minutos.

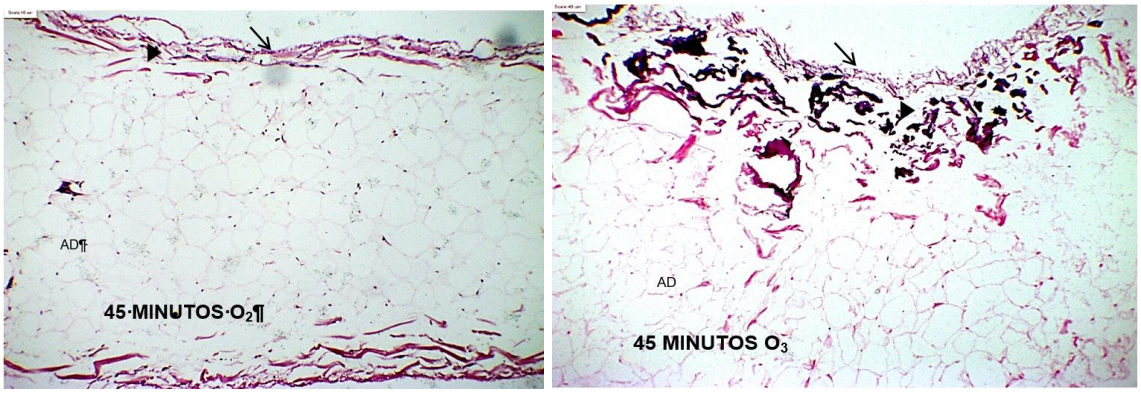


Figura 11: Fotos tiradas das lâminas histológicas em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 45 minutos utilizando os fluídos, oxigênio (O_2) e ozônio (O_3), caracterizando as alterações.

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

Nos grupos fluídos, oxigênio e ozônio, testado por 45 minutos observou-se maior agravo na destruição das camadas nas estruturas descritas anteriormente.

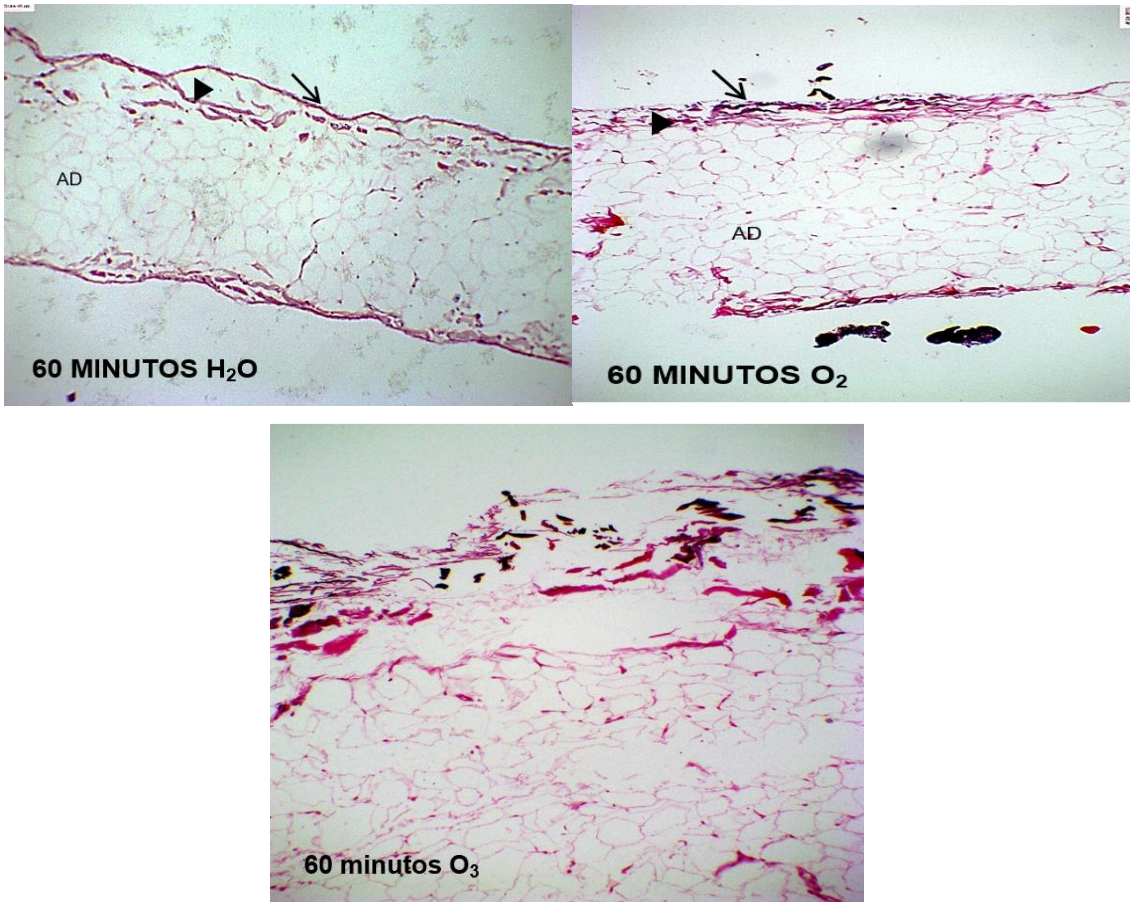


Figura 12: Fotos tiradas das lâminas histológicas em objetiva de 10x com escala de 48µm, no intervalo de 60 minutos utilizando os fluídos, água (H_2O), oxigênio (O_2) e ozônio (O_3), caracterizando as alterações.

→ Epitélio pavimentoso simples
▶ lâmina própria do tecido conjuntivo propriamente dito,
AD - Tecido Adiposo

No grupo fluído água após 60 minutos não foram observadas alterações nas estruturas histológicas da membrana peritoneal estudada. Nos grupos fluídos, oxigênio e ozônio, testados por 60 minutos observou-se que um maior agravo nas descrições relatadas anteriormente.

7.0. DISCUSSÃO

O dispositivo hidrodinâmico utilizado neste estudo foi desenvolvido para que houvesse a viabilidade da aplicação da água ozonizada na membrana biológica. Há a expectativa de que a própria movimentação das moléculas de H_2O utilizando a energia mecânica permita a remoção de material residual na superfície da amostra, o sistema proporcionou a originalidade do tema exposto.

O diferencial deste estudo consistiu justamente no processo de otimização do sistema desenvolvido baseado na hidrodinâmica podendo ser levado para as membranas biológicas, uma vez que grande parte dos estudos que envolvem tecidos biológicos, apresentam uma certa complexidade e tempo relevante em sua total higienização, não garantindo a integridade do tecido como apresentados nos estudos de Mota et al (2002) que avaliaram amostras da camada muscular do intestino delgado de cães quando expostos a produtos químicos visando a conservação das amostras, mas os meios não preservaram a integridade celular, a conservação do tecido biológico não foi o tema de nosso estudo, porém com a utilização do dispositivo a integridade do tecido permaneceu em condições viáveis de acordo com o fluído e tempo utilizados.

Os fenômenos hidrodinâmicos estão presentes nos organismos vivos, correspondendo desde a circulação sanguínea dentro do corpo com a utilização da bomba-cardíaca até a nível celular, micro fluídos, com o transporte de nutrientes para dentro das células (HUBER et al. 2018). Os micro-fluídos ainda estão sendo estudados para a confecção de biosensores em três dimensões, manipulação e separação celular visando aplicabilidade direta de novas tecnologias para o setor da saúde (MICHAEL et al., 2014).

Na Engenharia de Tecidos os produtos gerados pelo processo da descelularização de origem animal vêm ganhando interesse nos últimos anos devido às diversas vantagens frente aos biomateriais “scaffolds” artificiais (FU et al. 2014). Os tecidos de origem animal, caso do peritônio bovino, são largamente disponíveis e de baixo custo. Lachaud et al., (2015) em um trabalho de revisão apontaram que tais tecidos de origem animal são menos imunogênicos, além de

bioativos e biocompatíveis, e ainda retém uma grande parte das propriedades mecânicas dos tecidos originais mesmo após o processo de descelularização.

De acordo com os dados obtidos no presente estudo, verificou-se que o grupos experimentais expostos a água ozonizada durante 15, 30, 45 e 60 minutos ($GO_3$15, $GO_3$30, $GO_3$45, e $GO_3$60), assim bem como, os expostos ao oxigênio 30, 45 e 60 minutos ($GO_2$30, $GO_2$45 e $GO_2$60) apresentaram ausência de epitélio pavimentado simples, e os tecidos da lâmina própria e o adiposo perderam sua integridade. Estes dados indicam que dependendo da dose empregada, tanto o oxigênio medicinal, como o ozônio podem gerar lesões teciduais. Um das justificativas para o efeito observado pelo oxigênio estaria relacionado com a sua configuração eletrônica, isto porque o oxigênio tem forte tendência a receber um elétron de cada vez. A molécula de oxigênio em meio aquoso pode receber um elétron e gerar a formação de radicais livres (YU, 1994; DEL MAESTRO, 1990) que dependendo da dose empregada poderiam ser responsáveis pelas lesões observadas nas amostras biológicas.

No presente estudo optamos por empregar ozônio porque durante seu processo de decomposição não gera resíduos químicos no tecido biológico, além de ser agente oxidante e eficaz na inativação de bactérias, bolores, leveduras, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários que são mais resistentes (USEPA, 1999; PASSOS, et al. 2014).

Com relação a forma como ocorre a inativação dos microorganismos, há relatos na literatura que o ozônio atua inicialmente na membrana celular, sendo a superfície da célula microbiana o primeiro alvo a ser atingido. Sua ação antimicrobiana é decorrente da oxidação de glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, resultando na alteração na permeabilidade celular induzindo a lise osmótica da bactéria (KIM et al., 1999). Neste sentido, o efeito oxidante e consequentemente a inativação da população microbiana é inespecífica, o que justifica alterações na membrana biológica dependendo da dose empregada. Assim, a exposição do material biológico a partir de 15 minutos a água ozonizada foi suficiente para causar alterações significativas no tecido.

O sistema hidrodinâmico desenvolvido neste estudo foi analisado quanto a viabilidade da aplicação da água ozonizada na membrana biológica em termos de desinfecção. Há a expectativa de que a própria movimentação das moléculas

de água utilizando a energia mecânica cinética, permita a remoção de material residual de origem microbiana na superfície da amostra, neste sentido, uma vez este material diluído em meio água ozonizada, produzirá a inativação dos microorganismos através da interação destes com os compostos oxidantes gerados a partir da degradação da molécula de ozônio difundida no fluido.

Em nosso experimento o objetivo principal foi o desenvolvimento do dispositivo em sistema hidrodinâmico em diferentes fluídos e tempos aplicados, visando avaliar a integridade do tecido utilizado, mas em trabalhos futuros o dispositivo será testado no processo de desinfecção de amostras biológicas.

8.0. CONCLUSÕES

O sistema hidrodinâmico com apenas o fluido água nos tempos estudados (5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos) não alteraram as integridade celulares da membrana peritoneal bovina, em contrapartida, o fluído água-oxigênio as alterações ocorreram a partir de 30 minutos em diante, e no fluído água-ozônio, as alterações ocorreram a partir dos 15 minutos de aplicação.

O dispositivo desenvolvido em sistema fluído-dinâmico com escoamento do tipo laminar utilizando água ozonizada para higienização de peritônio bovino empregando um misturador demonstrou ser eficiente para potencializar a transferência do gás ozônio para o meio aquoso.

0.9. TRABALHOS FUTUROS

Novos estudos devem ser realizados com o intuito de confirmar o efeito microbicida do sistema.

10.REFERÊNCIAS

ALVARENGA, J. Possibilidades e limitações da utilização de membranas biológicas preservadas em cirurgia. In: DALECK, C.R. Tópicos em cirurgia de cães e gatos. Jaboticabal: Fundação de estudos e pesquisas em Agronomia-Universidade Estadual Paulista de Botucatu, p. 33-39, 1992.

ANUMULA, L., et al Antibacterial Activity of Freshly Prepared Ozonated Water and Chlorhexidine on Mutans Streptococcus When Used as an Oral Rinse – A Randomised Clinical Study. J Clin Diagn Res, 11(7), 2017.

BARROS, M.F.A. et al. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27(4), 856- 862, 2007.

BASTOS, E. L. S et al. Peritônio bovino conservado na correção de hérnia ventral em ratos: uma alternativa para tela cirúrgica biológica. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgia, 32(5), 256-260, 2005.

BOCCI, V. Ozone: a new medical drug. Dorrecht: Springer; 2005.

BONCZ, M. Á. Oxidação seletiva de compostos orgânicos em água residuária por ozônio baseado em processos de oxidação. PhD Tese, Universidade de Wageningen, Wageningen, Holanda, p. 168, 2002.

BORCH, E.; ARINDER, P. Bacteriological safety issues in beef and ready-to-eat meat products, as well as control measures. Meat Science, 62(3), 381-390, 2002.

CARVALHO, L. F. Mecânica de Fluídos. Curitiba: UnicenP, Petrobrás, 2002.

CENGEL, Y. A.; CIMBALA, J.M. Mecânica dos Fluídos. Fundamentos e Aplicações. Bookman, 836p, 2007.

CHIATTONE, P.V.; TORRES, L.M.; ZAMBIAZI, R.C. Aplication of ozone in industry of food. Alim. Nutr., 19 (3): 341-349, 2008.

COFFEY, J. C., O'LEARY, D. P. The mesentery: structure, function, and role in disease.Lancet Gastroenterol Hepatol. 1(3), 238-247, 2016.

DALECK C.R.; ALESSI A.C.; COSTA-NETO, J.M. et al. Substituição de um retalho diafragmático de cão por peritônio de bovino conservado em glicerina: estudo experimental. Ars Vet., 4, 53-61, 1988.

DECLARAÇÃO DE MADRID SOBRE OZONIOTERAPIA. 2010. Associação Espanhola de profissionais médicos de Ozonoterapia (AEPROMO), pp. 1-21.

DEL MAESTRO, R. F. An approach to free radicals in medicine and biology, Acta Physiologica Scandinavica (1990) 492:153-68.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tratado de Anatomia Veterinária. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 813, 2004.

FERREIRA, W. F. S. Eficácia da água ozonizada no controle de microrganismos em morango (Fragaria x ananassa Duch.) e efeito na qualidade físico-química durante o armazenamento. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, p. 104, 2017.

FIGUEIREDO, T.F.B., LIMA, C.J., FERNANDES, A.B., ZÂNGARO, R.A., MENDES, A.L.S., MOREIRA, L.H. (2018): Effect of Ozone on Engorged *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) Females During the Pre-Laying Period**,** Ozone: Science & Engineering, DOI: 10.1080/01919512.2018.1533807.

FONSECA, P. M. M. et al. Analysis of Damage on the Streptococcus mutans Immersed in Ozonated Water: Preliminary Study for Application as Mouth Rinse. Ozone: Science & Engineering, 41, 2019.

FONSECA, P. M. M. et al. Disinfection of Dental Instruments Contaminated with Streptococcus mutans Using Ozonated Water Alone or Combined with Ultrasound. Ozone: Science & Engineering, 37: 85-89, 2015.

FOX, R. W.; MACDONALD, A. T. Introdução à Mecânica dos Fluídos. 5ª edição, LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 1998.

FRANDSON, R.D; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 454, 2005.

FREITAS, Flávio G. R. et al. **The impact of duration of organ dysfunction on the outcome of patients with severe sepsis and septic shock**. Clinics. 2010, 63(4):483.

FU, R. H., WANG, Y. C., LIU, S. P., SHIH, T. R., LIN, H. L., CHEN, Y. M., et al. Decellularization and recellularization technologies in tissue engineering. Cell Transplant. (2014) 23(4-5):621–630. doi:10.3727/096368914X678382.

GUIMARÃES, G. C.; SCAVONE, A. R. F.; MACHADO, M. R. F.; Cruz, C.; CAPALBO, A. C.; SANTOS, A. L. Q. Avaliação histológica de membranas biológicas bovinas conservadas em glicerina e a fresco. Bioscience Journal, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 120-127, 2007.

D. HUBER, A. OSKOOEI, X. C. SOLVAS, A. DEMELLO, G. V. KAIGAL. Hydrodynamics in Cell Studies, Chem. Rev. (2018) 118, 2042−2079, doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00317.

JUNQUEIRA, L. C. U., CARNEIRO, J. Tecido conjuntivo. In: Histologia básica. 10. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 92-124, 2004.

KIM, T. J.; SILVA, J. L.; CHAMUL, R. S.; CHEN, T. C. Influence of ozone, hydrogen peroxide, or salt on microbial profile, TBARS and color of channel catfish fillets. Journal of Food Science, Malden, 65(7), 1210-1213, 2000.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. Journal of Food Protection, Des Moines, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

LACHAUD, C. C., RODRIGUEZ-CAMPINS, B., HMADCHA, A. SORIA B. Use of mesothelial cells and biological matrices for tissue engineering of simple epithelium surrogates, Front BioengBiotechnol. (2015); 3:117. doi: 10.3389/fbioe.2015.00117.

MARSON, R. F. et al. Use of Ozonated Water for Disinfecting Gastrointestinal Endoscopes. Ozone: Science & Engineering, 38(5), 346-351, 2016.

MICHAEL A. DANIELE, DARRYL A. BOYDA, DAVID R. MOTT, FRANCES S. LIGLER. 3D hydrodynamic focusing microfluidics for emerging sensing technologies, Biosensors and Bioelectronics (2014), https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.07.002

MOTA, F. C. D. et al. Análise ultra-estrutural da túnica muscular do intestino delgado de cães preservado em diferentes meios. Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science, 39(1/6), 13-17, 2002.

NOLASCO, R.M., BELETTI, M.E., EURIDES, D., SILVA, F.O.C.E.; COELHO, H.E.; DALECK, C.R.; SILVA, L.A.F. Avaliação histológica e ultra-estrutural de tendões de bovinos preservados em diferentes meios. Ars Veterinária, 19(3), 210-215, 2003.

NOSKOWA, G. L. Microbiologia de las Carnes Conservadas por el Frio. Zaragoza: Ed Acribia. 1972.

OLIVEIRA, T.C.; SCAVONE, A.R.F.; MACHADO, M.R.F.; MAZZUCATTO, B.C. Experimental cystoplasty in rabbits (Oryctolagus cuniculus) with bovine peritoneum conserved in 98% glycerol. Cienc. Rural, 38 (8), 2008.

PASSOS, T. M., DA SILVA, L. H. M., MOREIRA, L. M., ZÂNGARO, R. A., DA SILVA SANTOS, R., FERNANDES, F. B., et al. Comparative analysis of ozone and ultrasound effect on the elimination of Giardia spp. Cysts from wastewater. Ozone: Science &Engineering (2014) 36(2): 138-143.doi: 10.1080/01919512.2013.864227.

REYNOLDS, O. An experimental investigation of the circumstances which determine whether the motion of water shall be direct or sinuous, and of the law of resistance in parallel channels. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 174, 935–982, 1883.

ROÇA, R. O; SERRANO; A.M. Abate de bovinos: Alterações Microbianas da Carcaça. Higiene Alimentar, 9(35), 8-13, 2004.

RODASKI, S. et al. Artroplastia acetábulo-femoral em cães com pericárdio bovino conservado. Archives of Veterinary Science, 7(2), 179-187, 2002.

RODRIGUES, L. E. M. J. Mecânica de Fluídos, São Paulo, 2005.

ROMA JH. Simulação Numérica Direta e de Grandes Escalas de Escoamentos Transicionais e Turbulentos. In: Coleção Cadernos de Turbulência. Associação Brasileira de Ciências Mecânicas-ABCM. Rio de Janeiro. Vol. 2, 2003.

SCHIAVON, G. J. et al. Projeto e Análise de um Sistema Gerador de Ozônio para Remoção de Cor de Efluente Têxtil. Revista Ciência e Tecnologia, 16: 28-29, 2013.

SILVA Jr, M.R. Fisiologia da circulação. 2ª ed. São Paulo: Edart; 1-35, 1977.

SILVEIRA, A. L. L. Modelo hidrodinâmico bidimensional com aplicação ao rio Guaíba. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental), Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,1986.

SOARES, L. V. Domestic Sanitary Sewer: Study of Hydrodynamics, Mass Transfer, and Microrganisms Indicator Inativation. Ph.D. Thesis. – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

STEENBERGHE, M.V., SCHUBERT, T., BOUZIN, C.; CARAVAGGIO, C.; GUIOT, Y., DAELAXHEMA, GIANELLO, P. Enhanced Vascular Biocompatibility and Remodeling of Decellularized and Secured Xenogeneic/Allogeneic Matrices in a Porcine Model. Eur Surg Res (2018), 59:58–71, doi: 10.1159/000487591

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. 1999. Disponível em: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi?Dockey=2000229L.txt>.

VULCANI, V.A.S. et al. Obtenção, caracterização e aplicação cirúrgica de matrizes de colágeno na parede abdominal de eqüinos. Ciência Animal Brasileira, 9, 778-785, 2008.

WELLS, P. B.; YEH, A. T.; HUMPHREY, J. D. Influence of glycerol on the mechanical reversibility and thermal damage susceptibility of collagenous tissues. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 53(4), 747-753, 2006.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiological Reviews (1994) 74:139-62, doi:.10.1152/physrev.1994.74.1.139.