

FACULDADE DE TECNOLOGIA DE SÃO PAULO

Departamento de Sistemas Eletrônicos

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE CONTROLE
ELETRÔNICO PARA CABINE ASSÉPTICA A SER APLICADA EM
ANÁLISES POR PCR**

Ramon Silva de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para a conclusão
do curso Superior de Tecnologia em
Eletrônica Industrial da Faculdade de
Tecnologia de São Paulo.

São Paulo - SP

2023

FOLHA DE APROVAÇÃO

RAMON SILVA DE OLIVEIRA

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE CONTROLE ELETRÔNICO PARA CABINE ASSÉPTICA A SER APLICADA EM ANÁLISES POR PCR

Monografia apresentada como requisito à obtenção do título de Tecnólogo em Eletrônica Industrial, Curso de Tecnologia em Eletrônica Industrial, Departamento de Sistemas Eletrônicos, Faculdade de Tecnologia de São Paulo, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Leonardo Frois Hernandez
Orientador – Departamento de Sistemas Eletrônicos – FATEC-SP

Prof. Dr. Victor Sonnenberg
Chefe do Departamento de Sistemas Eletrônicos – FATEC-SP

Prof. Dra. Ana Neilde Rodrigues da Silva
Departamento de Sistemas Eletrônicos – FATEC-SP

Prof. Dr. Paulo Jorge Brazão Marcos
Departamento de Sistemas Eletrônicos – FATEC-SP

São Paulo, 4 de Maio de 2023.

Ficha catalográfica elaborada manualmente pelo autor.

Oliveira, Ramon Silva Controle: Controle Eletrônico para Cabine Asséptica para PCR / Ramon Silva de Oliveira. - 2022. 36 f.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Frois Hernandez

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Tecnologia de São Paulo, Departamento de Sistemas Eletrônicos, para obtenção do grau de tecnólogo em eletrônica industrial.

1. Controle Eletrônico - Monografias. 2. Microcontroladores - Monografias. 3. Eletrônica Industrial I. Oliveira, Ramon Silva de. II. Faculdade de Tecnologia de São Paulo. Faculdade de Tecnologia em eletrônica industrial. III. *Controle Eletrônico para Cabine Asséptica de PCR.*

Dedico esta monografia a minha esposa Joseane Oliveira que me apoiou em todos os momentos durante essa jornada muito difícil onde precisei acordar cedo muitos dias e até ficar noites sem dormir, ela sempre me incentivou a se esforçar e concluir essa etapa da minha vida e dedico também a meu pai que sempre me incentivou a estudar me ajudando financeiramente, dedico também a minha mãe que me ajudou a ser a pessoa que sou hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que me deu a vida, energia e saúde necessária para chegar ao fim dessa jornada.

Agradeço à minha esposa Joseane que cedeu do tempo que poderia estar com ela para estudar e me dedicar neste curso.

A minha irmã que sempre me apoiou no meu desenvolvimento e novas conquistas.

Aos meus colegas que foram extremamente parceiros nos estudos e fundamentais para meu rendimento em muitas matérias.

Sou grato pela confiança depositada na minha proposta de projeto pelo meu professor Leonardo Frois, orientador do meu trabalho.

Quero agradecer também à Faculdade de Tecnologia de São Paulo e todo seu corpo docente e funcionários pelo excelente serviço prestado a nós alunos.

Enfim, agradeço a todos que fizeram parte dessa etapa decisiva em minha vida.

*“Acredito que existem
apenas três pilares para o sucesso: saber o seu
porquê, estabelecer metas e educar-se sobre
como executá-las”.*

Daymond John

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo mostrar o processo de desenvolvimento de uma placa para controle de uma cabine asséptica de pequeno porte para análise por Polimerase Chain Reaction (PCR) ou Reação em Cadeia da Polimerase demonstrando a seleção de componentes necessários para a confecção de uma placa de controle eletrônico utilizando produtos facilmente encontrados no mercado, como relês, microcontroladores, resistores, chaves de acionamento, lâmpadas fluorescentes, lâmpadas UV que serão controlados por um tela de toque capacitivo que já é usada em cabines de fluxo laminar. Foram realizados testes práticos de funcionamento necessários para garantir que a cabine atingirá o que o usuário de um laboratório realmente necessita, visto que a cabine tem como objetivo a proteção da amostra, do operador e do meio ambiente. O desenvolvimento deste projeto visa permitir que haja cada vez mais automatização das cabines hoje usadas em laboratórios visando melhorar a segurança e precisão em todas as análises feitas em laboratório, sejam elas do campo de pesquisa ou diagnóstico. A precisão nos resultados das análises é bastante melhorada na ausência de microorganismos que estão presentes no ambiente mas que são eliminados pela cabine asséptica de PCR. A operação sugerida da cabine está nos comandos dados pelo display capacitivo, por exemplo, acender a lâmpada de iluminação, ligar a ventilação da cabine, iniciar a descontaminação da cabine pela lâmpada UV por tempo controlado, apresentando estas informações no display. O sucesso na implementação do sistema foi comprovado com testes específicos, onde observou-se que comandos inseridos diretamente na tela de toque resultam em acionamento do mecanismo desejado de acordo com rotinas pré-programadas.

Palavras-chave: Cabine. Asséptica. PCR. Assepsia. Fluxo laminar

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Esquema dos processos realizados numa reação de PCR.....	Pág.13
FIGURA 2 – Passos finais de uma reação de PCR.....	Pág.14
FIGURA3–Gráfico do fluxo de ar na capela de fluxo laminar horizontal).....	Pág.15
FIGURA4–Gráfico do fluxo de ar na capela de fluxo laminar vertical).....	Pág.16
FIGURA5–Gráfico do fluxo de ar em um capela de segurança biológica(PCR)...	Pág.16
FIGURA6–Gráfico do fluxo de ar em um capela de segurança biológica (CI II).	Pág.18
FIGURA 7 – Capela Asséptica de PCR com acessórios.....	Pág.19
FIGURA8–Impacto, Interceptação e Difusão de Ar.....	Pág.20
FIGURA9-Espectro Eletromagnéticoay Touch Screen Capacitivo.....	Pág.22
FIGURA10-Grafico de comparação das lampadas germicidas de UV.....	Pág.24
FIGURA11-Demonstração do esquema descrito por Keitz.....	Pág.25
FIGURA 12 -Sobrevivência de bactéria sob exposição à radiação UV.....	Pág.27
FIGURA 13 -Medidor de radiação.....	Pág.27
FIGURA14- Funcionamento da tela capacitiva.....	Pág.29
FIGURA15- <i>DisplayTouch Screen</i> Capacitivo.....	Pág.29
FIGURA16- Interface Principal.....	Pág.30
FIGURA 17 - Exemplo de uma Fonte IRM 05-05.....	Pág.35
FIGURA 18–Ligação Elétrica IRM 05-05.....	Pág.36
FIGURA 19– Exemplo de circuito interno de um MAX3232.....	Pág.37
FIGURA 20 – Diagrama de Blocos do LF33CDT-TR.....	Pág.38
FIGURA21–Ligação Elétrica MAX3232.....	Pág.38
FIGURA22–Exemplo de Relê G5LE.....	Pág.39
FIGURA 23–Ligação elétrica dos relês.....	Pág.39
FIGURA24–Esquema Elétrico da interface.....	Pág.40
FIGURA 25- Esquema Elétrico Principal do Projeto.....	Pág.41
FIGURA26– Layout Superior da Placa de Circuito Impresso.....	Pág.42
FIGURA27- Layout Inferior da Placa de Circuito Impresso.....	Pág.42
FIGURA28- Placa de Circuito Impresso montada.....	Pág.43
FIGURA29- Simulação da Assepcia.....	Pág.45
FIGURA 30 - Simulação de assepcia finalizada.....	Pág.45
FIGURA 31 - Simulação de porta aberta para Assepcia.....	Pág.46
FIGURA32- Simulação de fluxo de ar – Porta fechada.....	Pág.47
FIGURA33- Simulação Acionamento luz branca.....	Pág.48
FIGURA34- Simulação agendamento da Assepcia.....	Pág.48
FIGURA 35 - Simulação: contagem para inicio da assepcia agendada.....	Pág.49
FIGURA 36 – Simulação: inicio da assepcia agendada.....	Pág.50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Intervalos da luz UV..... Pág. 23

GLOSSÁRIO DE SIGLAS

CSB - Cabine de segurança biológica.

PCR–Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	13
1.1. Objetivo Geral.....	153
1.2.Objetivo Específico.....	203
1.3.Justificativas.....	13
2. REVISÃO TEÓRICA	14
2.1.A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase – (<i>Polimerase Chain Reaction</i> – PCR) – breve resumo [Anexo 1]	14
2.2. Cabines para Controle Biológico e Assepcia.....	15
2.3.Fluxo de Ar, Ventilação	20
2.4.Filtros HEPA.....	21
2.5.Processo de desinfecção por lâmpada UV – Lampâda Germicida	22
2.5.1.Processo de desinfecção e efeciência da Luz UV	26
2.5.2.Fluência ouDose.....	26
2.5.3.Fluência ou Dose.....	27
2.5.4.Decadência de estágio único	28
2.6. Display sensível a toque (Touch Screen).....	30
2.6.1.Telas Capacitivas (Capacitive Overlay).....	31
2.6.2.Interfaces do Usuário	32
3. DESENVOLVIMENTO.....	34
3.1.Descrição da operação desejada.....	34
3.2.Principais Dados	34
3.3.Definição do microcontrolador	35
3.3.1.Principais partes do programa em C do PIC	35
3.3.2.Fonte de alimentação IRM – 05- 05.....	38
3.3.3.Max3232 Multichannel RS-232.....	39
3.3.4.Relê 5LE.....	42
3.4.Interface para o <i>Display</i>	43
3.5.Esquema Elétrico Principal do projeto.....	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1.Descrição geral da operação desejada.....	47
4.1.1. Opção Início imediato da assepcia.....	47
4.1.2.Sistema de proteção para acesso indevido à cabine durante o procedimento de assepsia.....	49

4.1.3.Função Ventilação Positiva para evitar entrada de contaminação na câmara.....	50
4.1.4.Iluminação interna da cabine	51
4.1.5.Opção de agendamento do procedimento de assepcia	52
4.2.Conclusão parcial da construção e operação do sistema.....	54
5. CONCLUSÕES	55
6. ANEXO	55

1. INTRODUÇÃO

1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto é desenvolver um projeto experimental de uma placa de controle eletrônico de uma cabine asséptica para análises de Reação em Cadeia da Polimerase (Polimerase Chain Reaction - PCR) com um custo menor em comparação com cabines já comercializadas no mercado e que possa ser adaptável a qualquer cabine que não tenha um processo automatizado.

1.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos propõe-se:

- Analisar a viabilidade dos componentes no mercado nacional;
- Estimar potência máxima e o consumo da placa e do sistema para que seja possível uma instalação em uma cabine não automatizada.
- Realizar os testes de acionamento e verificar o funcionamento de todas as lâmpadas.

1.3 Justificativa

Este trabalho justifica-se pela grande probabilidade de presença de contaminações por bactérias. As bactérias estão presentes em todo lugar e as cabines assépticas de Reação em Cadeia da Polimerase (Polimerase Chain Reaction - PCR) são importantes para evitar que a amostra analisada tanto para diagnóstico como para pesquisa seja contaminada por algum agente externo, tornando impreciso a análise final dando um falso positivo ou falso negativo, ou até mesmo invertendo o resultado que seria negativo para um positivo e vice-versa. Também justifica-se pelo aspecto de segurança que o procedimento de análise aqui se insere, em especial para o operador mas também para o entorno na qual os equipamentos para análise se inserem e para o meio-ambiente. As cabines de fluxo laminar vertical e as cabines de segurança biológica fazem parte do processo de preparação da amostra para a realização da PCR, visto ser necessário que a amostra não seja contaminada por qualquer bactéria presente no ar.

2. REVISÃO TEÓRICA

Este Capítulo tem o objetivo de apresentar a conceituação teórica necessária para compreender o processo de Reação em Cadeia da Polimerase – PCR, bem como apresentar a conceituação teórica envolvida na construção e escolha de cabines assépticas para tais análises.

2.1. A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase – (*Polimerase Chain Reaction – PCR*) – breve resumo [Anexo 1]

O PCR apresenta uma ampla gama de aplicações em vários ramos da pesquisa científica. Essa reação possibilita que determinada região do genoma de qualquer organismo seja multiplicada em milhões de cópias, a multiplicação destes trechos específicos se dá alternando-se a temperatura de ensaio entre: a) Denaturação das cadeias do DNA genômico; b) anelamento (annealing) dos primers, usados para delimitar a sequência a ser amplificada; c) temperatura ótima específica da enzima: 72°C; d) reinício do ciclo. As figuras 1 e 2 a seguir mostram como esse processo ocorre.

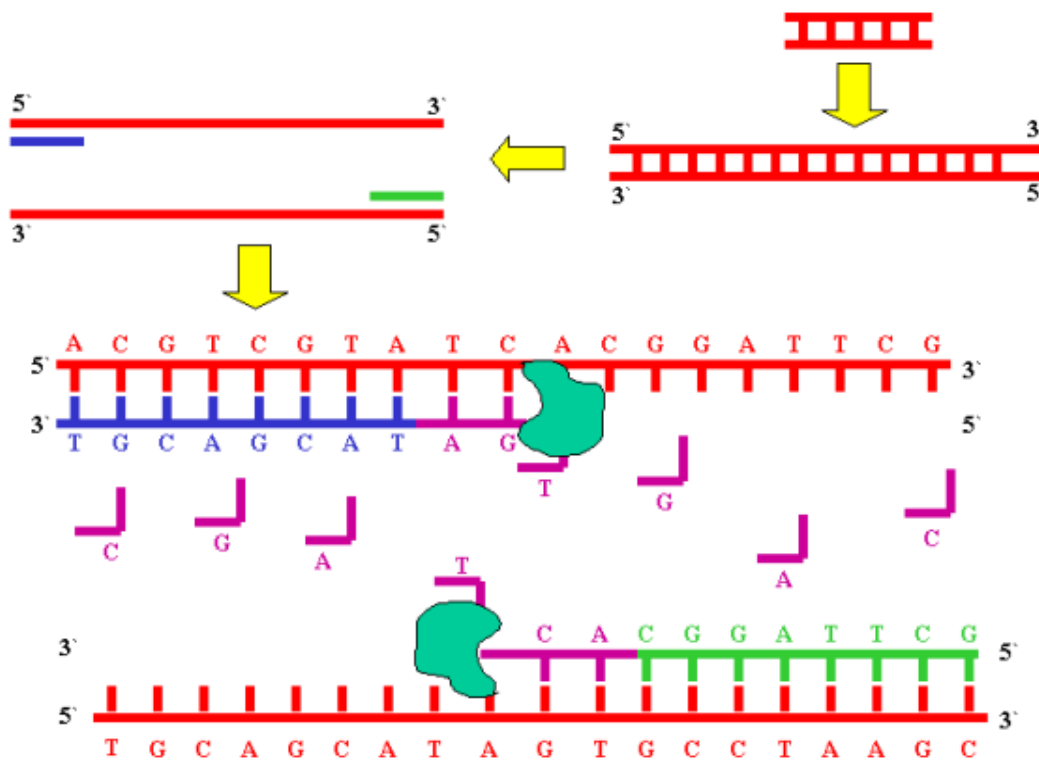


FIGURA1 - Esquema dos processos realizados numa reação de PCR. Após a denaturação das fitasmolde, ocorre o pareamento dos primers. A enzima, representada em verde, adiciona os desoxinucleotídeos complementarmente às fitas-mãe.

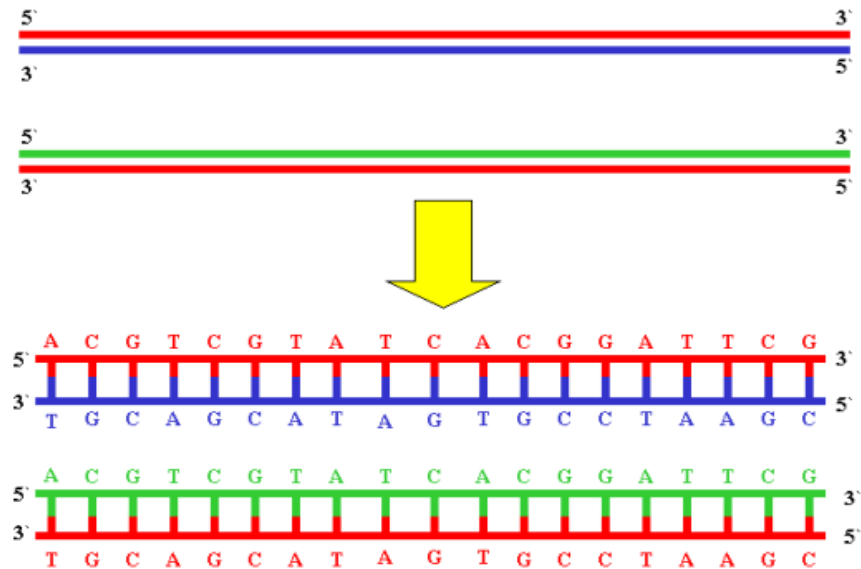


FIGURA2 - Passos finais de uma reação de PCR. A Figura mostra as duas fitas-mãe, pareadas com as suas fitas-filha complementares, sintetizadas a partir da adição dos desoxinucleotídeos pela DNA polimerase.

A técnica de PCR facilita a análise genética e permite o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico muito mais sensíveis e mais específicas do que as tradicionalmente utilizadas. A alta sensibilidade, a especificidade, a facilidade de execução e a análise de um grande número de amostras simultaneamente fazem dessa técnica uma opção atrativa para estudos epidemiológicos e para caracterização de microorganismos causadores de doenças. Por isso, torna-se necessário uma boa proteção contra microorganismos contaminantes na preparação da amostra que é feita dentro de uma cabine asséptica ou cabine de segurança biológica.

2.2. Cabines para Controle Biológico e Assepcia

Na cabine asséptica há três partes fundamentais para que esse processo de proteção da amostra aconteça, são elas: 1) o sistema de fluxo de ar e filtragem de ar, 2) a lâmpada UV-C germicida usada no processo de descontaminação, 3) o *DisplayTouch*

screen capacitivo que dá acesso a todos recursos do sistema. Vamos iniciar mostrando exemplos de capelas de fluxo laminar e cabines de segurança biológica com suas características que ajudam os usuários a escolher qual a mais apropriada para seu laboratório.

As capelas de fluxo laminar são subdivididas em duas categorias:

- Fluxo Laminar Horizontal
- Fluxo laminar vertical

Nas capelas de fluxo laminar horizontal ocorre 100% de renovação de ar e necessita de um filtro chamado HEPA. Na Figura3 a seguir podemos ver como ocorre o fluxo de filtragem do ar.



FIGURA3 – Gráfico do fluxo de ar na capela de fluxo laminar horizontal

Fonte: https://www.splabor.com.br/arquivos/capelas_de_fluxo_laminar_x_cabin es_de_seguranca.pdf

Nas cabines de fluxo laminar vertical ocorre 100% da recirculação do ar e também necessita do filtro HEPA para essa recirculação do ar. Na Figura4 a seguir também conseguimos analisar como ocorre essa recirculação.

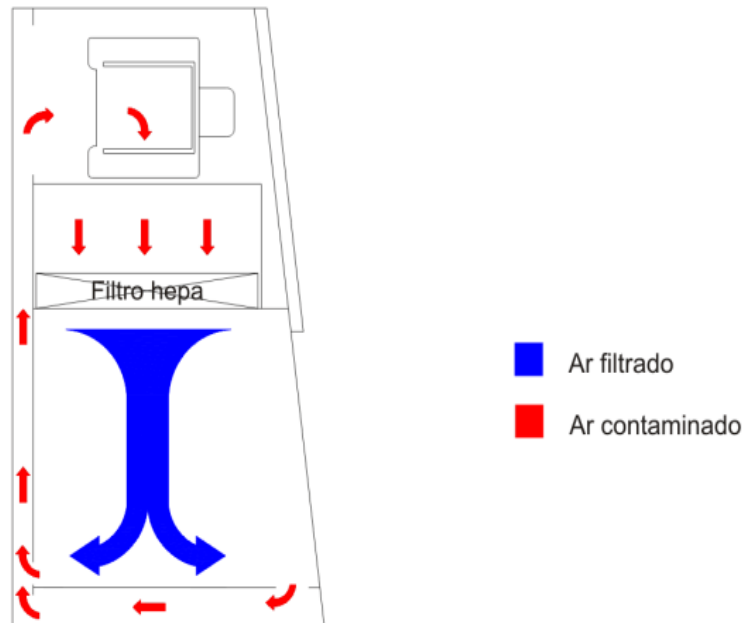


FIGURA4 – Gráfico do fluxo de ar na capela de fluxo laminar vertical

Fonte: https://www.splabor.com.br/arquivos/capelas_de_fluxo_laminar_x_cabines_de_seguranca.pdf

Dentre as cabines de fluxo laminar vertical está a cabine utilizada para preparação das amostras de PCR que apesar de ser de fluxo vertical ocorre 100% de renovação de ar e também utiliza filtro HEPA a diferença entre a capela anterior como mostra a Figura5a seguir, analisamos como ocorre essa circulação.

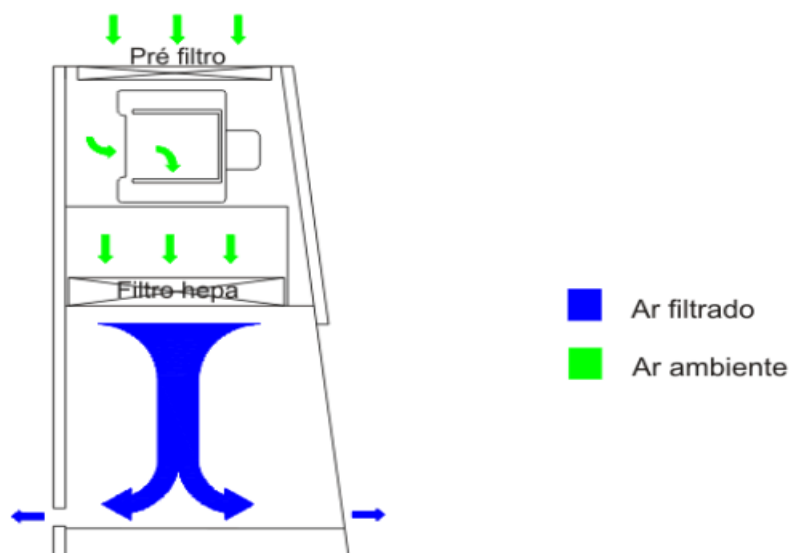


FIGURA5 – Gráfico do fluxo de ar em um capela de segurança biológica(PCR)

Fonte: https://www.splabor.com.br/arquivos/cabelas_de_fluxo_laminar_x_cabin_es_de_seguranca.pdf

Dentre os modelos de cabines há também as de seguranças biológica que são equipamentos construídos e projetados para dar segurança ao meio ambiente, ao operador e ao produto que está sendo manipulado. Nestas cabines o fluxo de ar também é vertical.

As cabines de segurança biológica são classificadas em 3 tipos:

- Classe II A1;
- Classe II A2;
- Classe II B2;

Estas cabines são mais robustas e geralmente ocupam mais espaço, necessitando de uma maior infraestrutura para a sua instalação, algumas delas possuem um vidro temperado de cada lado e isso dá um maior conforto para o operador, podendo assim dois trabalharem juntos. Vamos analisar também como elas estão classificadas e como o fluxo de ar ocorre.

Existem classes de proteção biológica para definir qual cabine será necessária para cada uso específico, neste estudo vamos nos concentrar na classe II de fluxo vertical com 100% de renovação de ar equipada com filtro HEPA que tem proteção para o operador, para a amostra e para o meio ambiente. Na Figura 6 a seguir há um exemplo do fluxo dessa cabine e como é feita a purificação do ar. Nesta figura podemos ver um exemplo de fluxo de ar em uma cabine asséptica ou cabine de segurança biológica classe II B2, onde 100% do ar é renovado. Sendo que 100% do ar insuflado são somados aos 30% do ar que formam uma cortina de proteção na parte frontal do equipamento. Dessa forma, impede que haja fuga do ar contaminado para o laboratório. Este ar é exaurido para fora do laboratório por meio de um sistema de duto. Ideal para manipulação de HIV, Oncologia, Tuberculose, Gripe aviária e outros vírus que acarretam perigo a saúde humana e ao meio ambiente

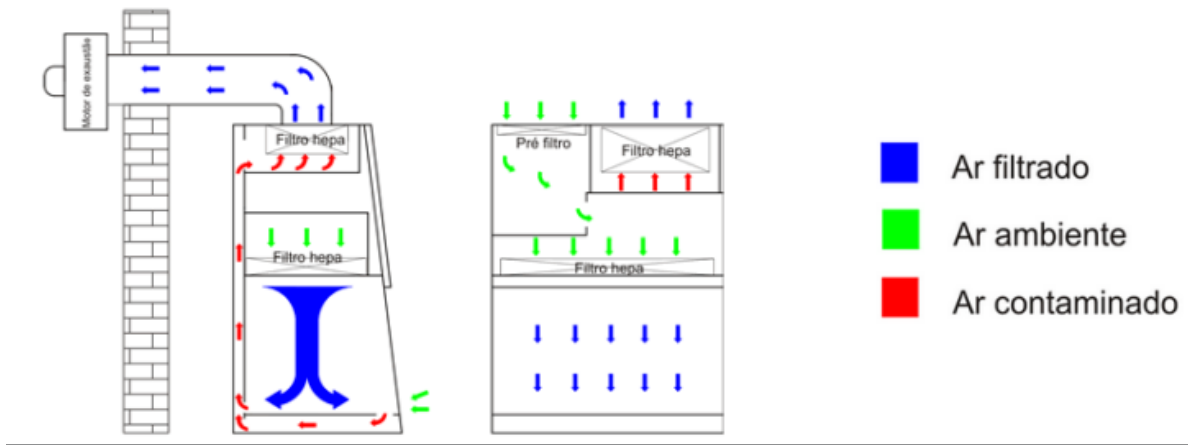


FIGURA6 – Gráfico do fluxo de ar em um capela de segurança biológica (Cl II)

Fonte: https://www.splabor.com.br/arquivos/capelas_de_fluxo_laminar_x_cabinas_de_seguranca.pdf

As cabines de segurança biológica são construídas e projetadas para oferecer proteção ao operador, a amostra manipulada e ao meio ambiente. E para evitar a fuga de ar contaminado para o laboratório alguns equipamentos operam em pressão negativa, principalmente quando são manipuladas substâncias tóxicas para o ser humano. As cabines geralmente seguem a norma classe 100 ABNT NBR 13.700 e ISO Classe 5 conforme a norma internacional ISO 14.644-1. Todas as cabines seguem uma norma regulamentadora para que haja a proteção necessária para o laboratório.

Todo esse sistema é filtrado por um filtro chamado HEPA com fluxo de ar sobre toda a superfície de trabalho (fluxo laminar vertical). A cabine classe II é classificada em dois tipos A e B com base na construção, velocidade e sistemas de exaustão. A classe B ainda possui três sub-grupos B1, B2, B3 de acordo com o volume de ar que recircula e a exaustão. Todos os laboratórios e clínicas que manuseiam amostras de DNA para pesquisa e diagnóstico necessitam de uma cabine para a preparação da sua reação e em todos os casos é necessário um estudo para saber qual se aplica, levando em consideração a precisão da análise e a estrutura do laboratório. Na Figura 7 a seguir mostra uma cabine instalada em um laboratório e equipada com os instrumentos necessários para a preparação da amostra, mas com controle manual.



FIGURA7 – Capela Asséptica de PCR com acessórios

Fonte: Arquivo Pessoal

2.3. Fluxo de Ar, Ventilação

Algumas cabines como a mostrada na Figura6, necessitam que seja feito uma filtragem do ar contaminado gerado pelo usuário e depois esse ar seja expelido para fora do laboratório por um exaustor, mas descontaminado para não prejudicar o meio ambiente. Neste caso também é utilizado um filtro HEPA para a descontaminação.

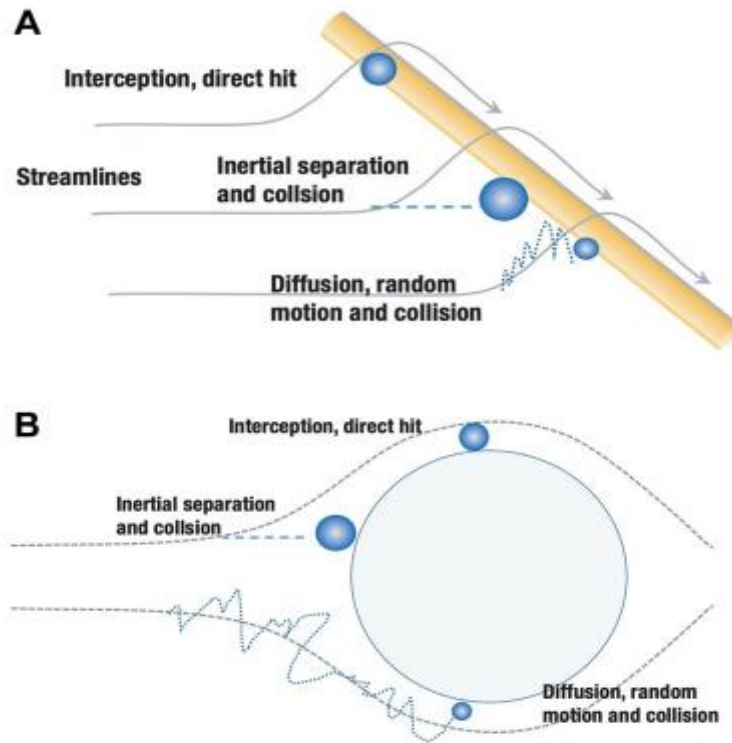
Nestas cabines geralmente não há dutos internos, há dutos externos da cabine para expelir o ar já descontaminado para o ambiente.

Visto que esse projeto é para uma cabine de pequeno porte para manipulação de amostras e reagentes para a realização do PCR como a mostrada na Figura 7, não haverá dutos e ela trabalhará ao invés de com um exaustor será um ventilador. Neste caso trabalhando com pressão positiva. O ar será puxado do ambiente, passará pelo filtro HEPA e será ventilado para dentro da cabine impedindo que o ar contaminado do ambiente entre enquanto o operador está trabalhando de acordo com a Figura 5 mostrada anteriormente. Para que o ar contaminado não entre na região de trabalho do operador, as normas internacionais recomendam que a velocidade do ar seja 0,45 m/s com tolerância de $\pm 20\%$. Desta forma o ar contaminado é repellido.

2.4. Filtros HEPA

O primeiro filtro HEPA foi projetado na década de 1940 por Arthur D. Little como parte do Projeto Manhattan. Esse Projeto foi um programa de pesquisa e desenvolvimento que produziu as primeiras bombas atômicas durante a Segunda Guerra Mundial (HEINISCH, 2018). Dessa forma, se iniciou um grande avanço na tecnologia de filtragem de ar. Esse filtro HEPA foi fundamental no controle de partículas muito pequenas, as quais estavam contaminadas por fontes radioativas nucleares. (MICHAELIS, 2005). Existem diversos tipos de filtros, dentre eles, os filtros eficientes de ar particulado, filtros de retenção de partículas de alta eficiência e filtros de ar de penetração ultra-baixa, os quais têm sido amplamente utilizados em várias indústrias e aplicações por muitas décadas. (NAZARENKO, 2020). Os filtros HEPA são recomendados para o controle de infecção em ambientes de saúde baseada no equilíbrio de sua alta eficiência de filtração e menores quedas de pressão em comparação com os filtros ULPA. (HINDS, 1999). Além disso, esses filtros também são utilizados para a filtragem de ar recirculado em cabines de controle biológico e asséptico.

Os filtros HEPA geralmente são fabricados com vidro de microfibras plissadas ou com outros tipos de fibras dispostas aleatoriamente em diversas camadas, com diâmetros que variam de 2 a 500 nm. À medida que o ar flui através do filtro e entre as fibras, partículas aéreas, como gotículas respiratórias e aerossol, ficarão presas por 1 de 3 mecanismos: impacto, interceptação e difusão. Conforme mostra na Figura 8 a seguir, a partícula é interceptada pelo filtro; colide com as estruturas do filtro; difusão e colisão das partículas. A parte B da Figura mostra a visão do filtro em corte sagital dos três mecanismos descritos. (CHRISTOPHERSON, 2020).



Fonte: R. Vijayakumar. CHRISTOPHERSON, 2020

FIGURA 8: Impacto, Intercepção e Difusão de Ar.

Esses filtros são eficazes em mais de 99,9% na remoção de partículas como vírus, bactérias e fungos.

Sabe-se que os filtros HEPA só funcionam corretamente se instalados conforme instruções do fabricante, no entanto, não há intervalo de tempo definitivo para a sua substituição. Assim, as recomendações sobre a manutenção desses filtros devem ser mantidas de acordo com especificações dos fabricantes. (ASHRAE, 2021).

2.5. Processo de desinfecção por lâmpada UV – Lampada Germicida

Os hospitais usam lâmpadas germicidas nos comprimentos de onda ultravioleta (UV-C – 254 nm) para esterilizar equipamentos, água e o ambiente em salas de cirurgia. As indústrias de alimentos e medicamentos as utilizam para desinfetar vários tipos de produtos, recipientes e embalagens. Atualmente essa tecnologia está sendo utilizada para desinfecção de ambientes, equipamentos médico-hospitalares e equipamentos de proteção de uso comum diante da recente pandemia do COVID-19.

Todos os tipos de CSB citados acima ou cabine asséptica devem ter como acessório uma lâmpada germicida para realizar a descontaminação da região onde a amostra é preparada, não pode haver nenhum agente externo na reação para que não haja erros na análise dos resultados e diagnósticos. Dentre as técnicas utilizadas no controle de microrganismos diversos pode-se destacar o uso de lâmpadas germicidas com emissão de radiação na região ultravioleta. As principais vantagens dessa tecnologia são: a relativa simplicidade de operação e funcionamento, a não formação de subprodutos tóxicos, tais como os compostos halogenados (THM's) comumente gerados durante a cloração, e a possibilidade de instalação do sistema fotoquímico em um espaço físico reduzido (Lazarova et al., 1999; Chin e Berube, 2005; Koivunen e Heinonen-Tanski, 2005).

O efeito germicida das lâmpadas UV é devido à energia associada ao comprimento de onda 254 nm ($472,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$), responsável por provocar alterações no DNA e RNA nas células atingidas. As lesões decorrentes de modificações no RNA são menos expressivas, pois o RNA é encontrado no interior da célula na forma de RNA mensageiro, transportador e ribossômico, possibilitando sua reparação (Bitton, 1994; WEF, 1996). Já a unicidade do DNA no interior celular o torna alvo de lesões muitas vezes irreversíveis, provocadas principalmente pela dimerização de bases nitrogenadas, as quais podem originar organismos debilitados e não hábeis à sua replicação e sobrevivência, aumentando a eficiência de inativação de patógenos. (WEF, 1996; USEPA, 1999). Chamamos de UV a região do espectro eletromagnético onde o comprimento dos raios luminosos situa-se entre 40nm e 15nm. A radiação UV divide-se em três categorias: UV-A, UV-B e UV-C de acordo com o comprimento de onda: 400 a 320nm para UV-A; 320 a 280 nm para UV-B; e 280 a 215 nm para UV-C. A radiação UV-C com comprimento de onda de 254nm é a que possui a maior atividade germicida, letal para bactérias, esporos, vírus, fungos, algas, embora as doses inativantes sejam variáveis. A radiação UV-C é absorvida por materiais orgânicos, e sua habilidade de penetração é baixa. A Figura 9a seguir mostra os diferentes espectros eletromagnéticos. A Tabela 1 define os intervalos da radiação UV e algumas características.

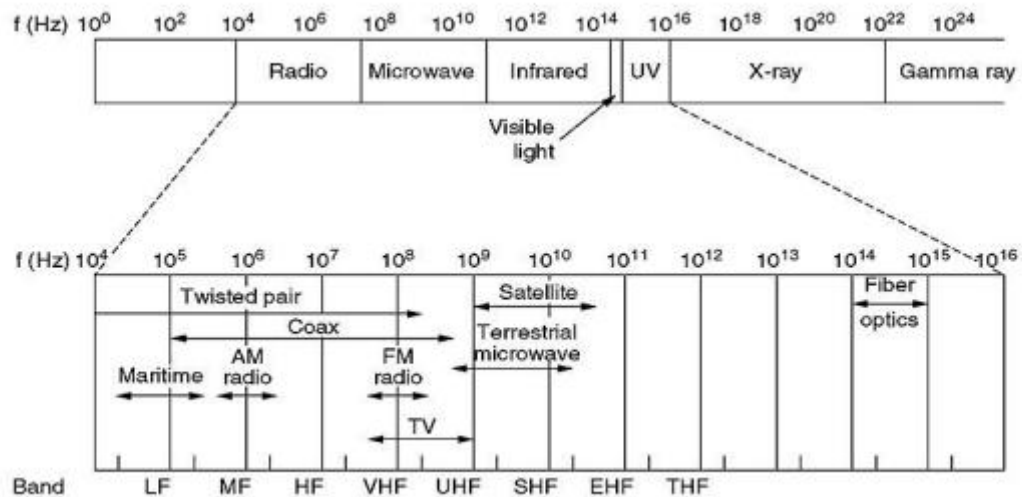


Figura9– Espectro Eletromagnético

Fonte:Fagundes, 2012

Raio e Intervalo (nm)	Descrição
UV-A 315 – 400	A radiação ultravioleta tipo A começa de 320nm à luz visível (400nm). A atividade da radiação UVA é 800 a 1000 vezes menor que a do UVB na pele porém, é também uma radiação prejudicial, pois além dos seus próprios efeitos, também potencializa (potencializa) os efeitos dos raios UVB.
UV-B 280 – 315	A radiação ultravioleta tipo B está entre 280nm e 315nm, o que é prejudicial a quase todas as formas de vida e é a principal causa de doenças de pele. Pode produzir reações agudas, como eritema de queimadura solar (vermelhidão) até queimadura solar, pigmentação da pele e imunossupressão do sistema imunológico (isto é, resistência reduzida e, portanto, resistência a infecções locais e sistêmicas. Os indivíduos são mais sensíveis a infecções bacterianas. Vírus etc.). O quadro clínico da doença crônica é muito variável, podendo ser transformado pelo foto envelhecimento, principalmente pela ocorrência do câncer de pele.
UV-C 100 – 280	A radiação ultravioleta tipo C tem duas faixas de comprimento de onda: uma se espalha no vácuo, variando de 100nm a 200nm, e a outra está entre 200nm e 280nm. A radiação é absorvida e não atinge a superfície da Terra.

Tabela 1 - Intervalos e características da luz/radiação UV

Fonte: Gouvea et al, 2013

A radiação UV-A para a área da desinfecção germicida é muito desfavorável devido a necessidade de um longo período de exposição à luz. Ela é utilizada no dia-a-dia em festas e eventos com a chamada luz negra. A radiação UV-B é a mais destrutiva, afeta a pele produzindo eritema e pigmentação. Já a radiação UV-C é a mais utilizada para desinfecção, pois atua num intervalo nanométrico propício para tal finalidade. (BOLTON; COTTON, 2008)

No Brasil ainda não existe uma norma reguladora sobre a construção desses tipos de equipamentos, devido a isso muitos que fabricam esses equipamentos seguem as normas americanas que omitem as referências a utilização da luz UV. Na Figura 10 a seguir notamos um gráfico que compara a eficiência das diferentes lâmpadas germicidas.

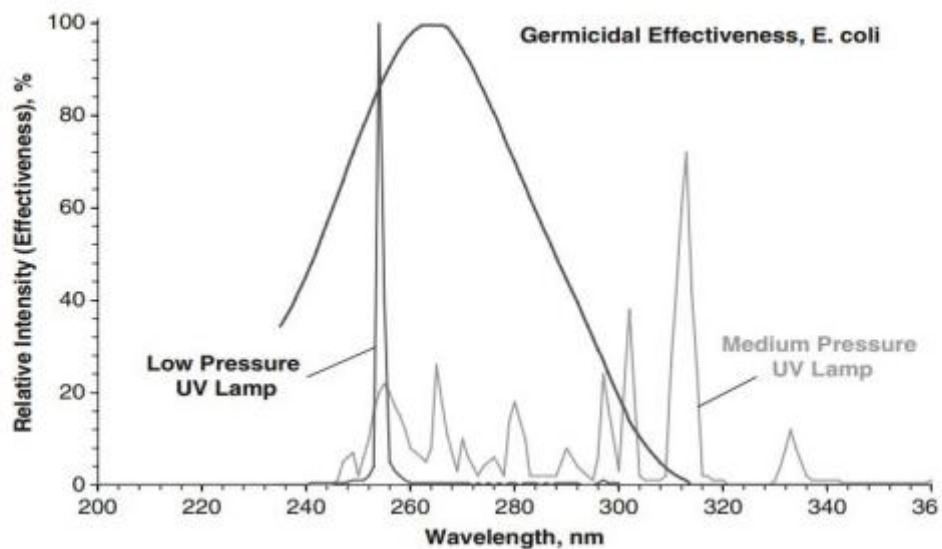


FIGURA10 – Gráfico de comparação das lâmpadas germicidas de UV de alta, média e baixa pressão.

Fonte: Kowalski, 2009

A Figura10 mostra que o pico da efetividade germicida das lâmpadas de média pressão chega a 260-265nm correspondendo o máximo de absorção de UV por uma bactéria específica chamada *Escherichia coli*. Já as lâmpadas de baixa pressão tiveram 95% de sua energia irradiada na faixa de 253,7nm. As duas lâmpadas emitem a mesma quantidade de potencia ultravioleta total e verificando a relação “comprimento de onda vs. eficiência energética”, fica comprovado que a lâmpada de baixa pressão tem uma eficiência maior naquela faixa de comprimento de onda.

Estudos reportam ainda o uso de lâmpadas germicidas em conjunto com a aplicação de desinfetantes químicos, como ozônio, peróxido de oxigênio, cloro, dentre outros, no controle de indicadores microbiológicos, tanto no tratamento de água de abastecimento quanto águas residuárias. Sistemas com mais de um agente de desinfecção juntamente com a radiação UV são particularmente indicados na inativação de microrganismos mais resistentes a um único estágio de desinfecção, como é o caso do protozoário *Cryptosporidium*. A eficiência da combinação de agentes desinfetantes está associada ao efeito sinérgico desencadeado na primeira etapa de desinfecção, cuja ação potencializa os resultados da segunda etapa de desinfecção, promovendo um incremento na inativação (Lotierzo et al., 2003; Wang et al., 2006; Bilotta e Daniel, 2007, 2010). Em muitos casos existe ainda o processo de descontaminação com álcool 70% junto com as lâmpadas germicidas para que o efeito da descontaminação seja maior e mais eficiente.

2.5.1. Processo de desinfecção e eficiência da Luz UV

O processo de desinfecção por UV pode envolver decadência exponencial simples (Decadência de estágio único) ou funções mais complexas, incluindo dois ou mais processos de decadência. O mais utilizado pelos sistemas de desinfecção é o exponencial simples, pois geralmente se atinge mais de 90% nesse primeiro estágio. O decaimento de dois estágios é usado quando a dose de exposição é suficiente para eliminar 99% de microrganismos e é observado uma resistência dos microrganismos restantes fazendo assim necessário um segundo estágio de desinfecção (KOWALSKI, 2009).

2.5.2. Fluência ou Dose

Segundo Keitz em 1971, a irradiância E em uma pequena superfície no ponto P na Figura 11, em uma distância a de uma linear fonte de radiação AB de comprimento l , equivale como mostrado na Equação 1:

$$E = \varphi \cdot 2 \cdot \pi \cdot l \cdot a (2\alpha + \sin\alpha)$$

Equação 1

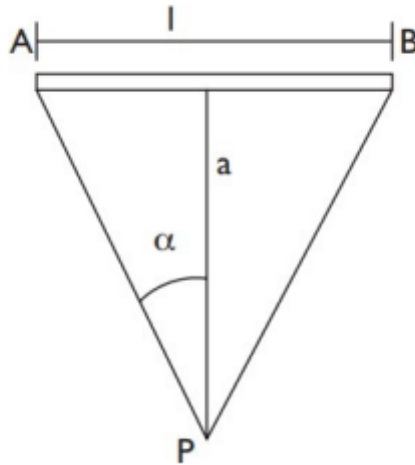


Figura 11 - Demonstração do esquema descrito por Keitz

Fonte: Philips, 2004

Essa equação simplificada temos para grande distancias da lâmpada:

$$E = \varphi \pi^2 \times a^2 \quad (\alpha \gg I) \quad \text{Equação 2}$$

Para distâncias menores:

$$E = \varphi \ 2\pi \times a \times l \quad (\alpha < 0.5 I) \quad \text{Equação 3}$$

O valor da irradiância da lâmpada (φ) é encontrado em tabelas de fabricantes.

2.5.3. Fluência ou Dose

Na desinfecção com UV, a fluência (dose de exposição UV) é definida como sendo o produto da intensidade de energia pelo tempo de exposição:

$$D = Et \times Ir \quad \text{Equação 4}$$

Sendo:

- D = Dose de exposição UV (fluência), J / m²
- Et = Tempo de exposição, seg

- I_r = Irradiância, W / m²

A irradiação (I_r), segundo KOWALSKI (2009) pode ser usada para expressar qualquer irradiância, tanto a irradiância (fluxo radioativo numa superfície plana) quanto a taxa de fluência, que é o fluxo radioativo através de uma superfície externa, como um micróbio esférico, que muitas vezes é chamado de irradiação esférica. Quando a dose UV elimina cerca de 90 % é conhecida como D90, designação usada geralmente como um indicador de sistema, sendo usado para avaliar a taxa de sobrevivência de um único microrganismo. No caso de exposição da luz em superfície, o campo de irradiância pode ser considerado relativamente constante e com isso a Equação 11 pode ser aplicada diretamente, obtendo a dose UV. É muitas vezes o caso de objetos expostos dentro de uma câmara UV, podendo assim haver uma medição da irradiância com um alto grau de confiabilidade.

2.5.4. Decadência de estágio único

O modelo primário usado para analisar a sobrevivência de microrganismos expostos a luz ultravioleta é o modelo clássico de decaimento exponencial. É uma taxa de decaimento de primeira ordem que é utilizado para a maioria dos sistemas UVGI, desde que a dose UV esteja dentro dos parâmetros de primeira ordem. Isso ocorre porque as taxas de desinfecção de 90- 99% geralmente podem ser alcançadas no primeiro estágio de decadência. Com poucas exceções, um valor de dose igual a 90 define o primeiro estágio de decadência para bactérias e vírus. O valor D 90 normalmente permanece preciso até doses no valor de 99 (KOWALSKI, 2009). A quantificação da sobrevivência de microrganismos expostos ao UV de estágio único é descrito pela Equação 4:

$$S = e^{-kD}$$

Equação 5

Onde:

- S= Fração de esporos sobreviventes após exposição a UV-C
- K= Constante de taxa (m² /J), (cada microrganismo possui um valor específico de constante)

- $D = \text{Dose UV (J / m}^2\text{)}$

A Figura 12 ilustra a decadência exponencial simples de uma bactéria exposta à irradiação UV. Esses dados exibem decaimento relativamente linear e a taxa de UV constante calculada a partir do ajuste da curva exponencial exibida na Figura 12 é $k = 0,0701 \text{ m}^2 / \text{J}$. Altos valores de constantes de taxa implicam em deterioração e desinfecção rápida. As constantes de taxas baixas implicam em resistência aos raios ultravioleta. Em geral, bactérias e vírus possuem constantes de taxa alta, enquanto os esporos de fungos têm constantes de taxa baixa.

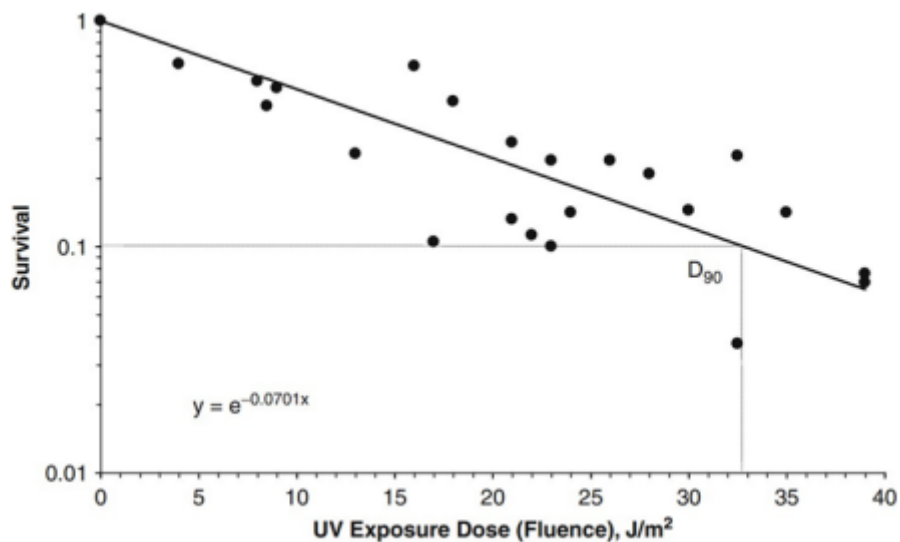


Figura 12 - Sobrevivência de bactéria sob exposição à radiação UV. A linha é o ajuste da curva da equação de decaimento exponencial.

Fonte: Kowalski, 2009

Como medida de prevenção pode-se medir a banda da luz UV emitida pela lâmpada usando um radiômetro e garantir que a banda esteja dentro da faixa de UVC eficiente para desinfecção. A seguir, na Figura 13, há um modelo de equipamento que pode ser usado para esse fim.



Figura 13 – Medidor de radiação.

Fonte: <https://pt.aliexpress.com/i/32799180359.html>

2.6. Displaysensível a toque (*Touch Screen*)

A *TouchScreen* (tela sensível a toque) é um dispositivo sensorial eletrônico desenvolvido para ser utilizado como interface entre o usuário e o aparelho através da detecção do toque dos dedos/mãos humanas, podendo ser chamada de Multi-Touch, quando houver capacidade de detecção vários toques simultaneamente. Conforme definido por **Dale e Lewis (2009; 137)**, é um tipo de dispositivo de entrada e saída (*Input/Output- I/O*) que é capaz de atuar tanto na obtenção quanto na exibição de dados ao usuário. Trata-se de uma película transparente que pode ser instalada sobre os dispositivos de vídeo de aparelhos como: computadores, celulares, GPSs, PDAs, vídeo games portáteis e muitos outros aparelhos, seja de trabalho ou de entretenimento.

Uma grande vantagem das tecnologias de toque, segundo **Lipták (2006:845)**, é que em caso de deficiência de espaço para se utilizar dispositivos de entrada como um teclado ou mouse pode-se utilizar a *Touch Screen*. a seguir há mais alguns detalhes sobre o *display* capacitivo.

2.6.1. Telas Capacitivas (Capacitive Overlay)

As telas de toque capacitivas podem ser ativadas somente com os dedos ou com uma caneta condutora, ou seja, mãos enluvasadas não permitem a detecção do toque neste tipo de Touch Screen, que dependem da corrente elétrica que flui para o ponto de toque, como mencionaram Dale e Lewis (2009; 137). A tela de toque com máscara capacitiva, de acordo com Lipták (2006; 846), é composta por um painel de vidro revestido com uma fina camada de armazenamento de carga.

Ela possui circuitos localizados nos cantos da tela que medem a capacidade e os fluxos de corrente elétrica resultante do toque do operador sobre a máscara. Os circuitos também medem os fluxos de corrente, que são proporcionais à distância do dedo, ou caneta condutora, em relação aos cantos. Essas relações entre os fluxos de corrente são usadas para localizar o ponto. A Figura14, logo a seguir exemplifica o esquema de funcionamento explicado aqui:

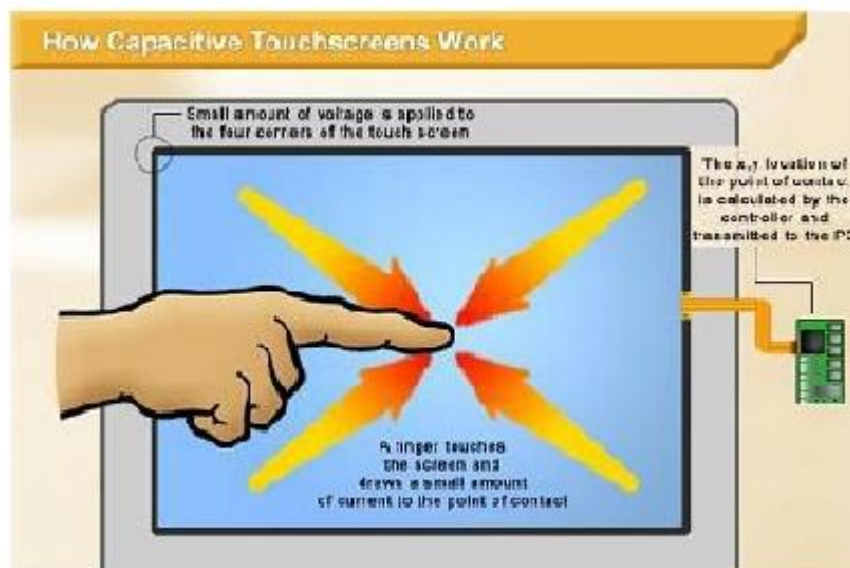


Figura14 – Funcionamento da tela capacitiva

Fonte: <http://www.touchsystems.com/TouchTechnology.html>

As telas de toque capacitivas são utilizadas em aparelhos como os iPhones(Apple) e os iPod touch(Apple). Outros celulares 3G também utilizam essa tecnologia de toque devido à sua resistência e durabilidade.

Neste projeto foi usado um *display touch screen* capacitivo utilizado nas cabines assépticas de PCR da empresa Loccus e a interface para que os comando executados no *displaytouch* possam ser entendidos e executados pela placa de controle microprocessado. A Figura 15 a seguir mostra uma imagem do *display* que será utilizado.

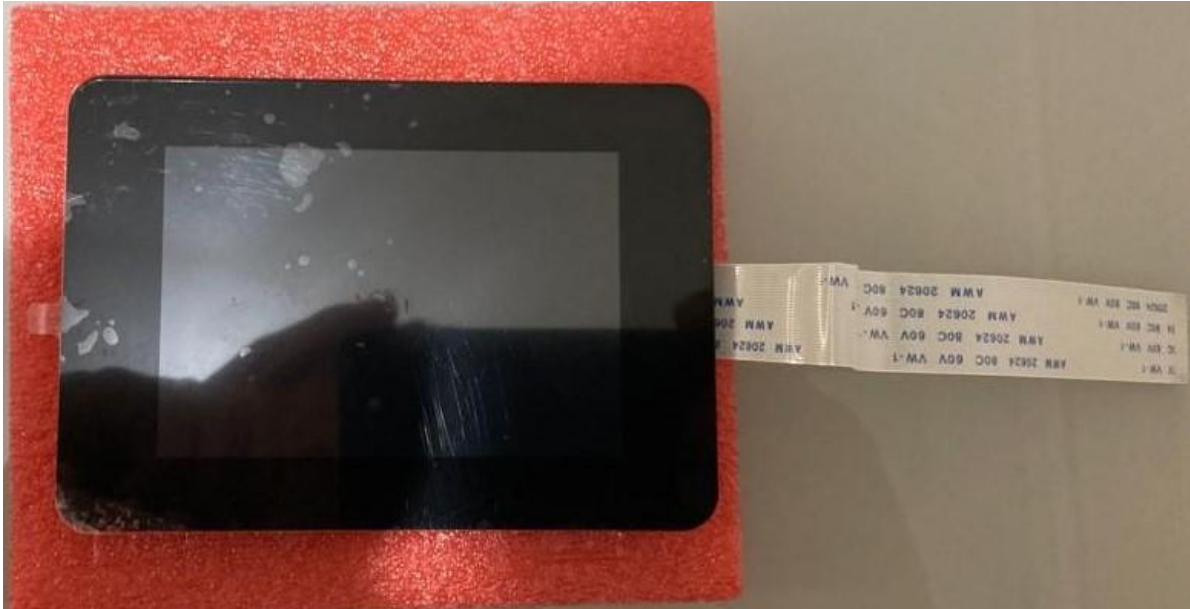


FIGURA 15 – *Display Touch Screen Capacitivo*

Fonte: Arquivo pessoal

2.6.2. Interfaces do Usuário

A placa de controle irá acionar as funções que o usuário escolher no menu do *display* sensível ao toque. Na Figura 16 a seguir podemos ver a interface principal do usuário.

Nesta interface principal o usuário pode selecionar as opções de acender a luz branca de iluminação, acender a luz UV para descontaminação e ligar o fluxo de ar da cabine. Além disso, há o menu configurações, onde pode ajudar a hora, programar uma assepcia, ajustar o som do *buzzer*, ver a vida útil da lâmpada e do filtro HEPA e ajustar a iluminação do *display*.



Figura 16 – Interface Principal mostrando botões virtuais e as respectivas funções.

Fonte: Arquivo pessoal

Como este *display* foi adaptado para a placa de controle, as principais funções são os acionamentos dos periféricos que serão utilizados pelo usuário durante a manipulação das amostras. Este *display* também necessita de um cartão de memória para comportar o programa usado na sua operação. Como esse *display* já é usado para controle de cabines assépticas não será possível fazer sua simulação via software porque é um produto comprado pré-configurado.

3. DESENVOLVIMENTO

Este Capítulo tem como objetivo apresentar o processo de desenvolvimento de uma placa para permitir o controle automatizado de uma cabine asséptica para análises de PCR.

a. Descrição da operação desejada

Para que os critérios de proteção desejados para esta cabine sejam atingidos, desenvolveu-se o seguinte procedimento para a operação da cabine asséptica:

- Ser operada de maneira simplificada com comandos acionados por toque em *display* sensível, acionando eventualmente o periférico desejado;
- Permitir uma programação de assepsia de forma automática sem a interação do usuário.
- Controlar os parâmetros: luminosidade dentro de um tempo controlado, velocidade do exaustor, interrupção de segurança da assepsia quando o usuário abrir a porta;
- Atuar para evitar situações de emergência como alterações no fluxo da cabine, pressão positiva de acordo com a norma, emitindo avisos sonoros ao fim da assepsia.

b. Principais Dados

A placa de controle acionará os seguintes acessórios a seguir:

- 2 Lâmpadas fluorescentes de 8W;
- 2 lâmpadas UV-C de 8W;
- Chave normalmente fechada para controle da lâmpada ao abrir a porta;
- Controle do fluxo de ar;
- *DisplayTouch screen*;

É desejável que a potência máxima do conjunto seja baixa para economia de energia, pois o uso pode ser de longos períodos.

c. Definição do microcontrolador

No desenvolvimento da placa de controle estava prevista a utilização de um microcontrolador. No entanto, devido aos protocolos utilizados para comunicação com o painel *touch screen* e para os demais periféricos, foi necessário usar um microcontrolador que fosse capaz de fazer a “gestão” de todas as comunicações, apresentando as seguintes características:

- Comunicação com o MAX3232 para receber dados na saída serial;
- Acionamento de relê para uso dos periféricos que o usuário necessita;
- Comunicação com uma porta USB;
- Controle do sensor da porta

A escolha recaiu sobre um microcontrolador de 8 bits, o PIC18F46J50 que apresenta dois módulos MSSP (*Master Synchronous Serial Port*), sendo um dos módulos utilizado para comunicação com a saída serial, deixando o segundo módulo MSSP livre para uma possível comunicação com o exterior. Este microcontrolador apresenta ainda um módulo USB disponível para uma possível ligação a um computador, por exemplo.

Apesar desta possibilidade, o protótipo construído ainda não contém estes conectores USB e serial RS-232, mas os pontos para sua possível soldagem já estão disponíveis e assim, após a soldagem, já ficarão nas posições corretas da placa e com as suas ligações elétricas feitas para uso posterior e melhorias do projeto.

d. Principais partes do programa em C do PIC

O programa em C foi desenvolvido com o objetivo de integrar o *display* já existente no mercado com o PIC18F46J50. A empresa que fornece o *display* fornece alguns parâmetros para o desenvolvimento do programa. Serão apresentadas algumas partes relevantes do programa desenvolvido.

- Linhas de comando relacionadas a programação da assepcia:

```
void inicializa_agendamentos(void);
int checar_agenda (void);
int decode_bin_data(int data);
int check_eom(void);
unsigned int count_inicializa=0;
```

- Linhas de comando relacionadas aos acionamentos das lâmpadas e do cooler essenciais ao funcionamento da cabine, iniciando com um comando para garantir que elas iniciem apagadas:

```
main() {
    salva_flag(1);          // - Necessário para iniciar com a aplicação após a
    programação no bootloader //
    setup_rtc(RTC_ENABLE,0); //habilita o RTC
    count_t0 = 0;
    RELEASE = 0;
    setup_adc_ports(NO_ANALOGS);
    set_tris_a (0xB3) ;
    set_tris_b (0x35) ;
    set_tris_c (0xBB) ;
    UV      = OFF;    // inicializa o led UV apagado
    White   = OFF;    // inicializa o led White apagado
    Exhaust = OFF;    // inicializa o led Exhaust apagado
    setup_comparator(NC_NC_NC_NC);
    setup_adc_ports(sAN0,VSS_VDD);          // Conversores AN1, AN2 e AN3
    habilitados //
    setup_adc(ADC_CLOCK_INTERNAL);          QW2AFCD98 /;Ç  [=/~GH0
    setup_vref(VREF_OFF);
    setup_timer_0(T0_INTERNAL|T0_DIV_4);
    sleep_mode=FALSE;          // init sleep flag
    ext_int_edge(H_TO_L);      // init interrupt triggering for button press
```

```

enable_interrupts(INT_EXT);// turn on interrupts
enable_interrupts(GLOBAL);
enable_interrupts(INT_RDA);
enable_interrupts(INT_RDA2);
enable_interrupts(INT_TIMER0);
enable_interrupts(GLOBAL);
set_timer0 (Preset);
set_adc_channel(0);

case TurnOnUV:                // comando 02 turn ON UV lights if the door is
closed
    if (!input(Door)) {
        UV = ON;
        if (White)
            White = OFF;
        fprintf (PC,"Lampadas UV Ligadas \r\n");
    }
    else
        fprintf (PC,"Porta aberta \r\n");
memset((void *)&comcmd, 0x00, sizeof(CommBufferProtocol));
    break;

case TurnOnWhite:            // comando 99 turn ON whitelights
White = ON;
    UV = OFF;
    fprintf (PC,"Lampadas Brancas Ligadas \r\n");
memset((void *)&comcmd, 0x00, sizeof(CommBufferProtocol));
    break;

case TurnOnExhaust:         // comando 04 turn ON Exhaust if the
door is Opened
    if (input(Door)) {
        Exhaust = ON;
UV = OFF;

```

```

        fprintf (PC,"Exaustor Ligado \r\n");
    }
    else
        fprintf (PC,"Porta fechada \r\n");
memset((void *)&comcmd, 0x00, sizeof(CommBufferProtocol));

```

- Linhas de comando para acender a lampada UV quando a porta é fechada:

```

case TurnOnUV:                // comando 02 Ligar UV se a porta estiver fechada
if (!input(Door)) {
    UV = ON;
    if (White)
        White = OFF;
    fprintf (PC,"Lampadas UV Ligadas \r\n");
}
else
    fprintf (PC,"Porta aberta \r\n");
memset((void *)&comcmd, 0x00, sizeof(CommBufferProtocol));
break;

```

Testes em protótipo foram realizadas para, inicialmente, demonstrar que os comandos desejados podem ser executados como resultado da programação desenvolvida.

e. Fonte de alimentação IRM – 05- 05

Partes da cabine são alimentadas diretamente pela rede de alimentação 100-240V, porém a placa de controle não diretamente, e, por isso, será necessário o uso de uma fonte para a geração da tensão principal do circuito +5V. Foi escolhida a fonte IRM – 05- 05 que suporta uma entrada de 110-220V e tem um consumo abaixo de 0.1W, além de ter uma resistência a poeira e eletromagnetismo. Também suporta temperaturas de -30°C até 70°C. Em alguns laboratórios, hospitais e clínicas há a necessidade do controle de temperatura e esse componente suporte uma boa variação.



FIGURA17 –Exemplo de uma Fonte IRM 05-05

Fonte:<https://www.meanwell.com/Upload/PDF/IRM-05/IRM-05-SPEC.PDF>

Na Figura 18 observamos este dispositivo no esquema elétrico principal do projeto. Notamos que a entrada de energia da rede conecta-se diretamente a ele, protegido por fusível.

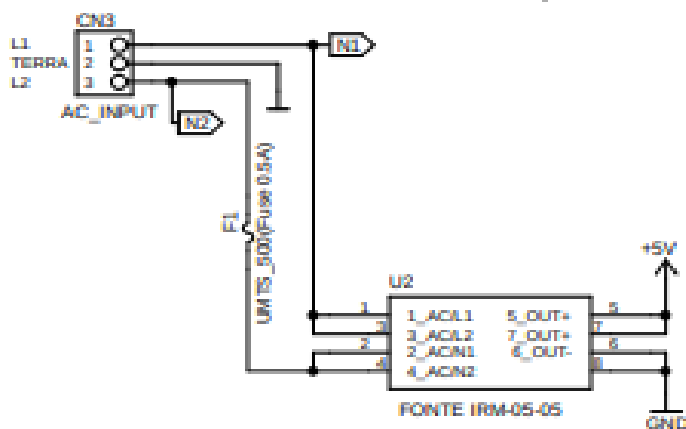


FIGURA 18 – Ligação Elétrica IRM 05-05

f. Max3232 Multichannel RS-232

Outro dispositivo importante na placa de controle é o CI MAX3232 que atua como conversor de TTL para RS232. A maioria dos sistemas digitais trabalham com tensões de 5Vdc, representando o nível lógico 1, e tensão de 0Vdc, para representar o nível lógico 0. Assim, para se conectar um sistema digital a uma interface RS232 é

necessário fazer uma transformação destes níveis lógicos para o correspondente padrão RS232. O padrão de sinal utilizada para a comunicação RS-232 compreende três seqüências, se o sinal de tensão esta entre -3 a -25Vdc, em relação ao pino terra (7), é considerado nível lógico 1, entre +3 e +25Vdc é considerado nível lógico 0. A faixa entre -3 a +3Vdc é considerado uma região de transição. Muitos fabricantes de circuitos integrados têm colocado no mercado conversores de níveis TTL para RS232 e um dos mais comuns utilizados é o circuito integrado MAX232 de fabricação da MAXIM (www.maxim-ic.com) ou da TEXAS Instruments (ww.ti.com). Este circuito gera tensões de +10 Vdc e 10 Vdc a partir de uma alimentação de 5Vdc, uma configuração típica deste circuito é ilustrada na Figura19.

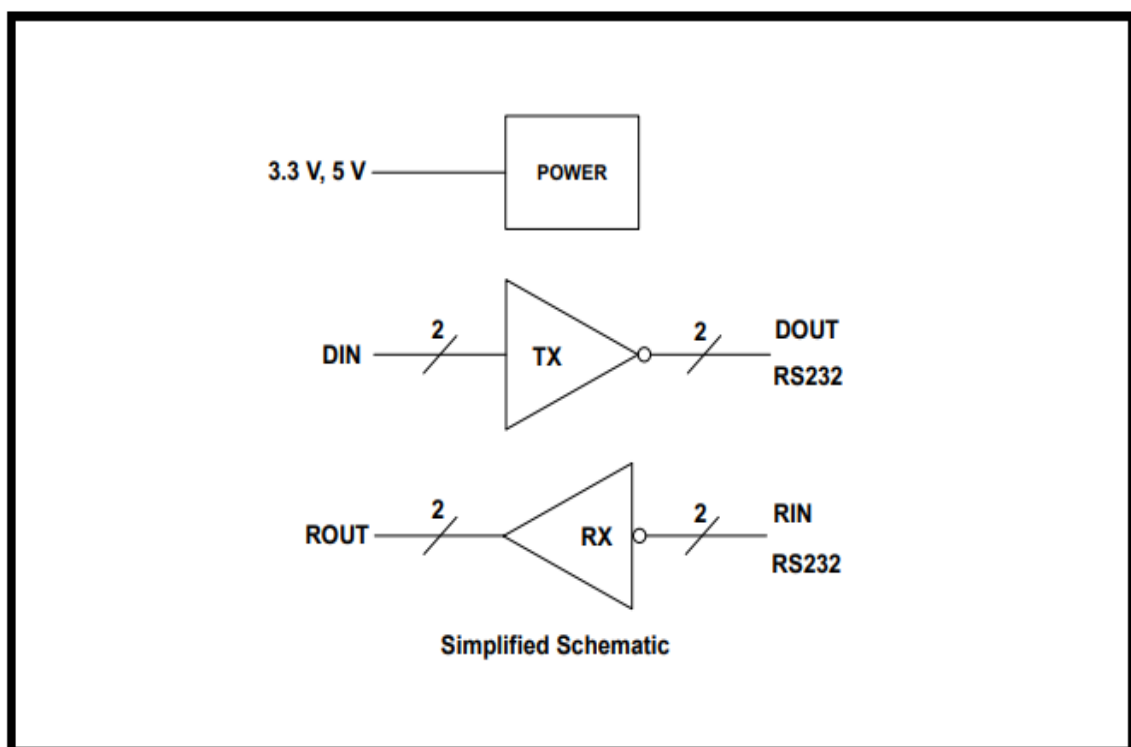


FIGURA19 –Exemplo de circuito interno de um
MAX3232

Fonte: <https://www.alldatasheet.com/max3232>

Para alimentação VCC do MAX3232 será usado um CI regulador de tensão oLF33CDT-TR, que fornecerá a tensão de 3.3V. Este CI possui baixa tensão de queda (0,45 V) e baixa corrente que o tornam particularmente adequado para baixo ruído, aplicações de baixa potência e especialmente em sistemas alimentados por bateria.

Na configuração de 5 pinos(PPAK) uma função de controle lógico de desligamento é disponível (pino 2, compatível com TTL). Isso significa que quando o dispositivo é usado como regulador local uma parte da placa pode ser colocada em espera, diminuindo-se assim o consumo total de energia. Na configuração de três terminais, o dispositivo tem o mesmo desempenho elétrico, mas é fixo em *ON*. Requer um capacitor de apenas 2,2 μF para estabilidade, economizando espaço na placa e custos. A seguir temos, na Figura 20, o diagrama em blocos do funcionamento desse CI.

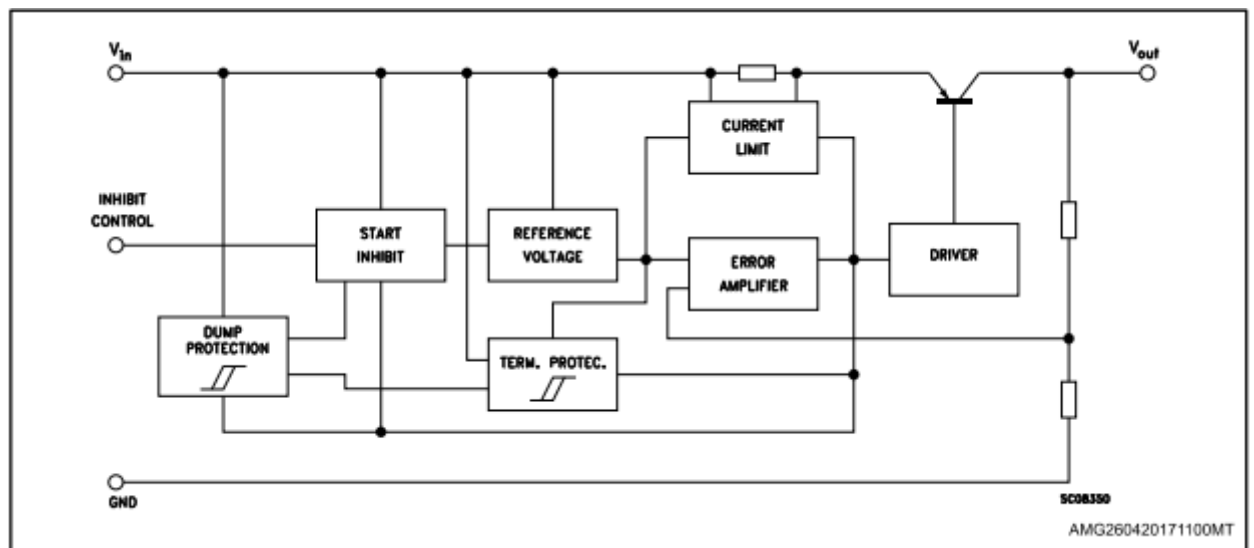


FIGURA 20 –Diagrama de Blocos do LF33CDT-TR

Fonte: <https://www.alldatasheet.com/max3232>

Na Figura 21 a seguir podemos observar onde esse componente se encontra no esquema elétrico principal do projeto. Podemos observar nessa parte do circuito que o componente MAX3232 é usado para fazer a comunicação com a saída serial que não está sendo usada no momento mas pode ser usada em projeto futuro. No circuito também observamos o uso do CI 74HC4050 para dar um ganho de sinal do microcontrolador para o MAX3232 e vice-versa.

A seguir, na Figura 23, conseguimos ver a sua disposição no esquema elétrico principal.

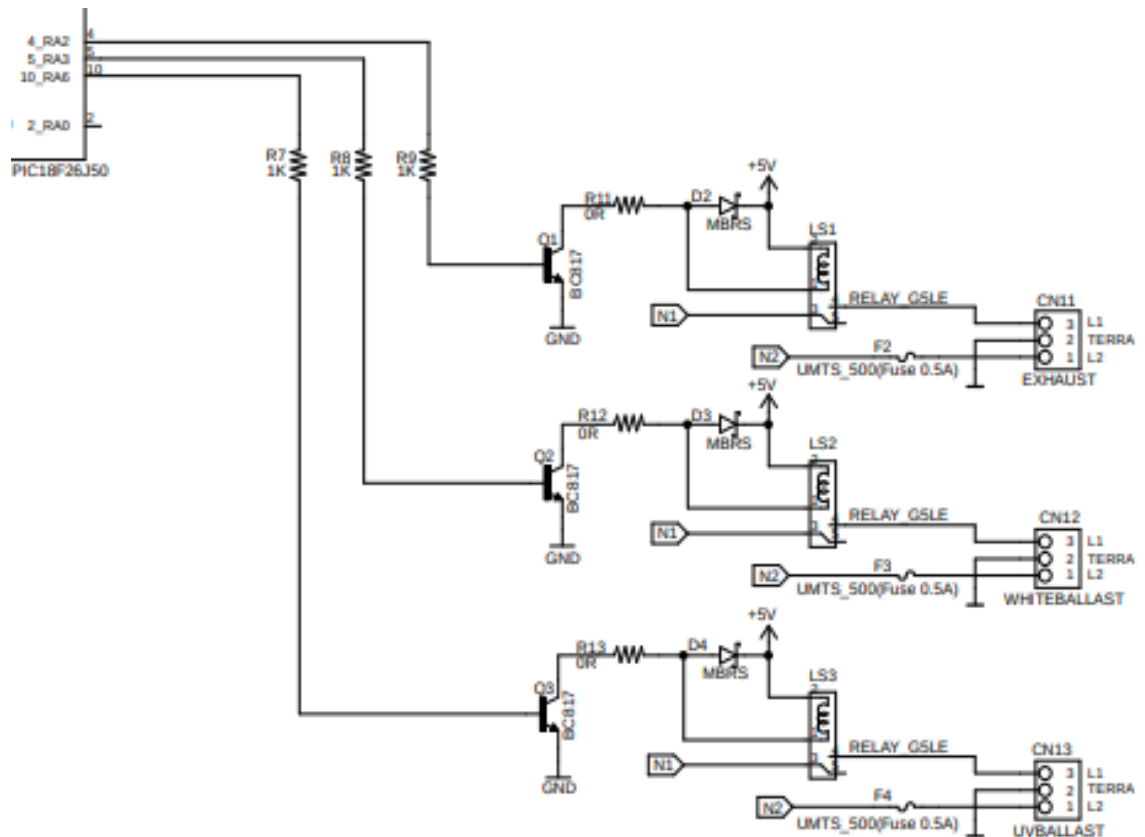


FIGURA 23 – Ligação elétrica dos relês

h. Interface para o *Display*

Para a conexão com o *displaytouch screen* foi necessário utilizar uma placa de interface, visando facilitar as ligações elétricas e porque o touch screen somente possui conexão por cabo flat. Portanto, o *display* é ligado na placa de interface via cabo flat e da placa sai um cabo de 4 vias para a placa de controle microcontralada. Essa placa foi produzida pela empresa Loccus, visto o *display* utilizado também ser dessa marca. A Figura 24 mostra o esquema elétrico dessa interface.

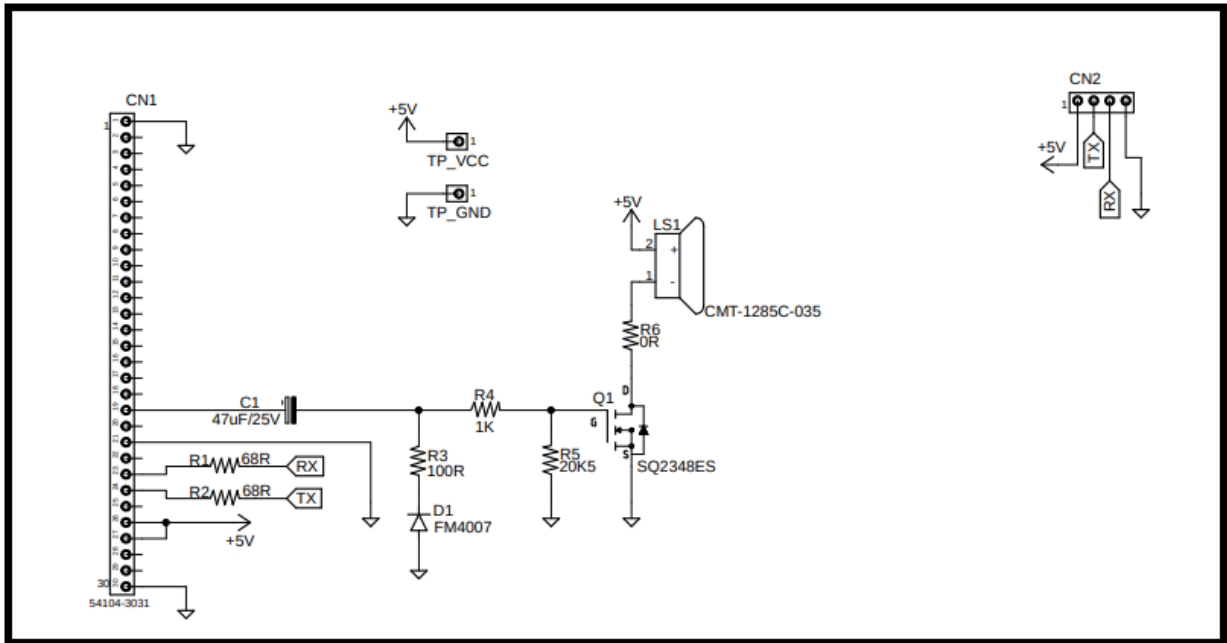


FIGURA24 –Esquema Elétrico da interface

Fonte: Feito pelo autor em simulador

No circuito acima, vemos que basicamente essa interface faz a comunicação RX e TX do *display* com a placa de controle, essa placa se faz necessária porque estamos usando um *display* que há no mercado nacional, já programado para uso na cabine da empresa Loccus e para receber os comando da placa de controle microcontrolada.

i. Esquema Elétrico Principal do projeto

Com os principais componentes selecionados acima é possível montar o esquema elétrico principal do projeto com todos os acionamentos e conectores que serão utilizados para as ligações elétricas com a interface do *display*, lâmpadas, sistema de exaustão, chave de controle de abertura e fechamento da porta. De um ponto de vista geral é um circuito bem simples mas útil para uma rotina diária de um laboratório, clínica ou hospital. Na Figura25 a seguir podemos ver o circuito completo.

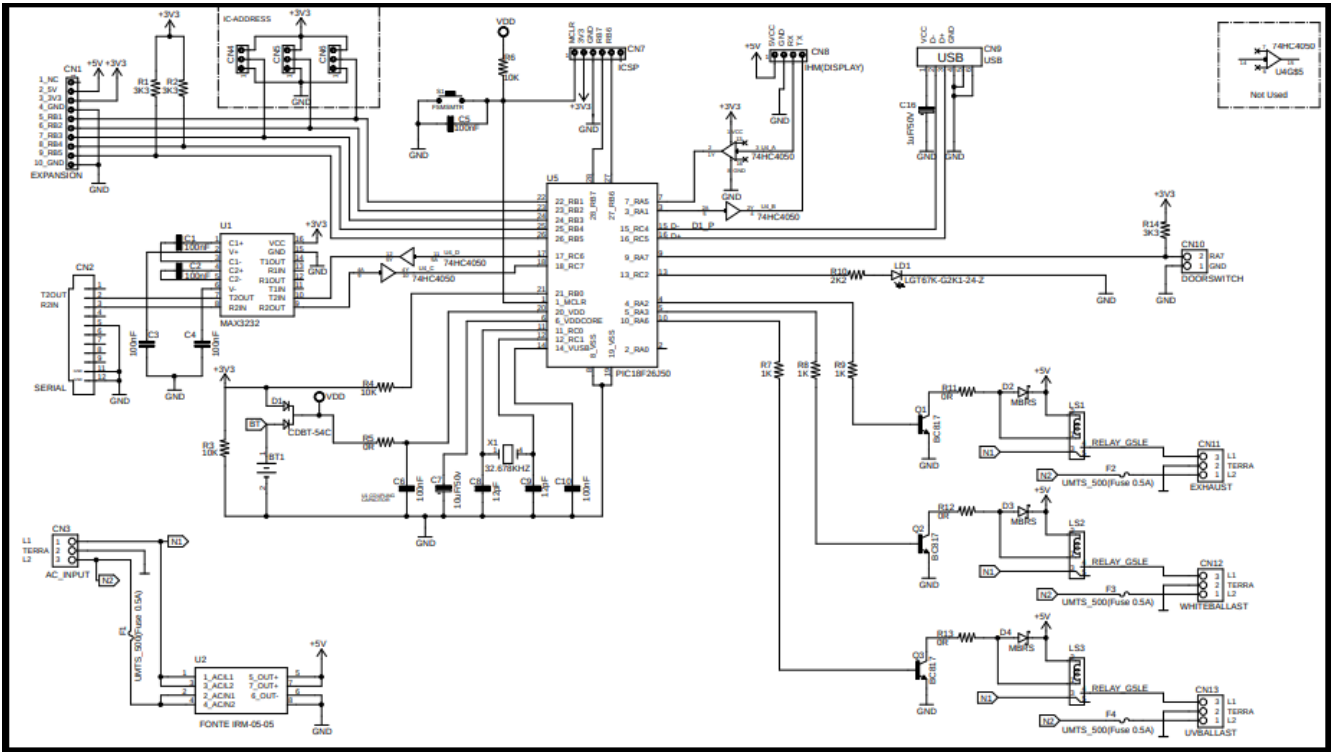


FIGURA25 –Esquema Elétrico Principal do Projeto.

Fonte: Feito pelo autor em simulador

Algumas das conexões (conector de USB e serial) da placa serão utilizados em uma melhoria do projeto no futuro. E a confecção da placa também é possível com esse layout da placa CPU.

Com esse esquema elétrico principal foi possível desenvolver o layout superior da placa de circuito impresso como visto na Figura26a seguir.

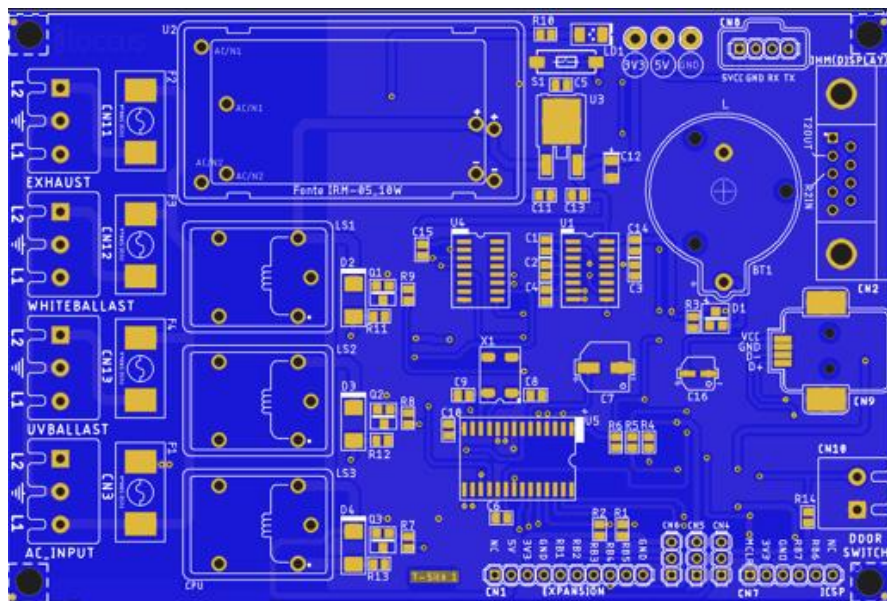


FIGURA26 –Layout Superior da Placa de Circuito Impresso.

Fonte: Feito pelo autor em simulador

Na Figura27 observamos o layout inferior da placa de circuito impresso.

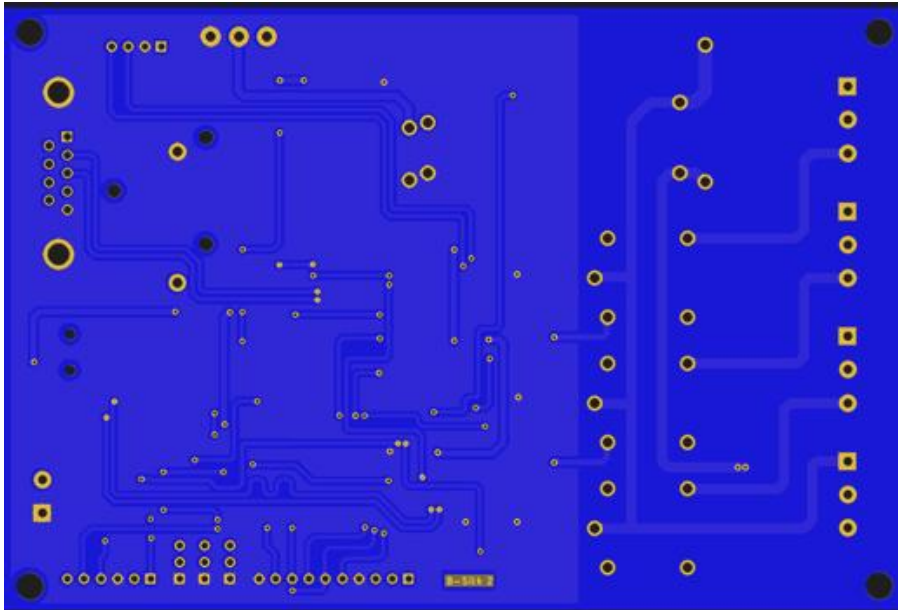


FIGURA27 – *Layout Inferior da Placa de Circuito Impresso.*

Fonte: Feito pelo autor em simulador

Na Figura28 a seguir observamos a placa CPU com todos os componentes soldados,nosseu devidos lugares.

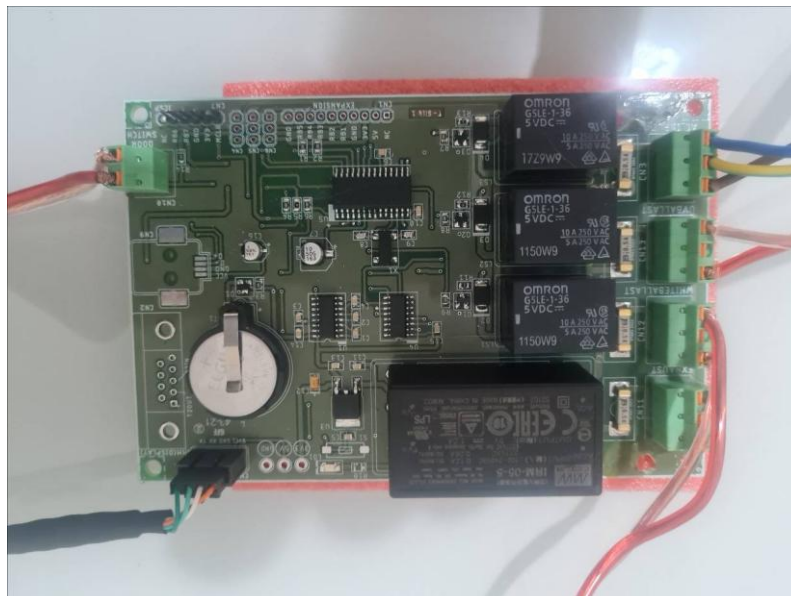


FIGURA 28 – *Placa de Circuito Impressomontada*

Fonte: Feito pelo autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a montagem do circuito acima com todos os periféricos(IHM e interface do *display*) foi possível chegar aos seguintes resultados, como segue.

j. Descrição geral da operação desejada

O equipamento desenvolvido foi construído para operar dentre as seguintes opções:

- **Início imediato da assepsia:** opção na qual o operador pode prepara imediatamente a cabine, podendo utilizá-la logo após o procedimento estiver finalizado;
- **Proteção contra acesso durante a assepsia:** por utilizar luz ultravioleta, o acesso indevido pode ser prejudicial ao operador enquanto a lâmpada estiver acesa;
- **Utilização da cabine:** é necessário promover fluxo de ar para fora da cabine durante o seu uso para evitar contaminação do interior, sendo necessário, para tal, manter a porta da cabine aberta;
- **Agendamento do procedimento de assepsia:** foi desenvolvida rotina para permitir que a assepsia aconteça em horários pré-determinados, sem a necessidade de um operador para iniciar o processo.

O item a seguir mostra, de maneira esquemática, a operação destas opções de uso que o equipamento proposto pode oferecer, demonstrando correto funcionamento dos seus módulos, como será descrito.

1. Opção Início imediato da assepsia

A assepsia da cabine funcionou corretamente após iniciada na tela principal do *display*. Como mostra a Figura 29 a seguir foi iniciada a assepsia de 15 minutos quando pressionando a opção no *display*.

Na Figura 30 seguinte observamos que a assepsia finalizou após os 15 minutos mostrados e desligou a lâmpada de simulação que está na posição UV e contabiliza também a quantidade de horas de vida útil da lâmpada UV e também do filtro Hepa.



FIGURA 29 – Simulação do procedimento de Assepsia imediata.

Fonte: Feito pelo autor



FIGURA 30 – *Simulação de assepsia finalizada*

Fonte: Feito pelo autor

m. Sistema de proteção para acesso indevido à cabine durante o procedimento de assepsia

A sensor de segurança da porta funcionou corretamente, visto ser de extrema importancia que a lâmpada UV fique ligada apenas com a porta fechada para que não haja risco ao operador. Neste caso para fins de simulação foi usado uma chave liga e desliga para simular o sensor de abertura e fechamento da porta na posição 0 a porta está aberta. Como mostra a Figura 31a seguir.



FIGURA 31 – Simulação de acesso indevido/porta aberta durante a Asepsia, utilizando-se chave/interruptor como exemplo de dispositivo de aviso (posição “0”).

Fonte: Feito pelo autor

n. Função Ventilação Positiva para evitar entrada de contaminação na câmara

É necessário o acionamento do fluxo de ar que ocorrerá com a porta aberta para que não entre ar contaminado para o interior da cabine enquanto o operador trabalha. A Figura 32a seguir mostram teste realizado desse sistema. Foi utilizada uma chave liga desliga para simular o sensor da porta, sendo a chave na posição 1 demonstra porta fechada.



FIGURA 32 – Simulação de fluxo de ar interrompido devido a porta fechada, utilizando-se chave/interruptor como exemplo de dispositivo de aviso (posição “1”).

Fonte: Feito pelo autor

o. Iluminação interna da cabine

O acionamento da luz branca também funcionou, visto que a manipulação das amostras e reagentes deve ser feita em um lugar bem iluminado, para que não haja erros devido a baixa iluminação. A Figura 33a seguir mostra o teste realizado, a opção está selecionada em verde.



FIGURA 33 – Simulação do acionamento luz branca para iluminação interna da cabine.

Fonte: Feito pelo autor

p. Opção de agendamento do procedimento de assepsia

O acionamento da assepsia realizado por meio de um agendamento foi testado e funcionou corretamente. A Figura34 a seguir mostra o agendamento sendo realizado com data e hora. Foi configurada uma data e horario próximo para realizar o teste.



FIGURA 34 –Tela mostrando opções para agendamentos de Assepsia

Fonte: Feito pelo autor

A Figura35 a seguir mostra quando o agendamento da assepsia é iniciado. Quando chega o dia e horário do agendamento é iniciada uma contagem de 10 segundos.



FIGURA 35 – Simulação: contagem para início da assepsia agendada previamente.

Fonte: Feito pelo autor

Finalmente a Figura 36 a seguir mostra o início da assepsia após finalizar a contagem de 10 segundos.



FIGURA 36 – Simulação: início da asepsia agendada previamente.

Fonte: Feito pelo autor

q. Conclusão parcial da construção e operação do sistema

De maneira geral o sistema proposto funcionou da maneira desejável, conforme projetado. Para sua realização o maior desafio foi o programa para a integração da placa de controle eletrônico (CPU) com o *display* capacitivo, visto que este *display* ser um produto já utilizado no mercado pela empresa Loccus. Este programa mostrou-se de uma complexidade bem alta. Outro desafio encontrado foi a montagem da cabine propriamente dita, uma vez que se trata de um equipamento de grandes dimensões. Assim, não foi possível até o presente momento simular o real comportamento do fluxo de ar pelas grandes dimensões do exaustor usado e também a estrutura metálica da cabine devido seu tamanho e custo.

Além disto pode-se elencar os resultados a seguir:

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou o desenvolvimento de um sistema para automatizar cabines assépticas para uso em análises de PCR em ambiente laboratorial. A justificativa em automatizar este sistema é aumentar a segurança na operação da cabine para o usuário e para as amostras. O sistema automatizado permite realização da operação de assepsia, que consiste na remoção de bactérias por intermédio da incidência de radiação UV. Como o procedimento deve ser feito com a cabine fechada e por pelo menos 15 minutos, a operação automatizada melhora este procedimento para o operador. Foram implementadas também outras funções, como agendamentos da assepsia, ações para manuseio da cabine e outros comandos diversos. Sensores também foram implementados para garantir as condições necessárias para uso em cada operação, seja quando é necessário abertura ou fechamento da porta.

O sistema foi implementado utilizando-se materiais comuns para montagem de circuitos eletrônicos diversos, como relês, lâmpadas e microcontrolador e foi utilizado tela sensível ao toque para inserção dos comandos. A tela permite, baseada em linguagem de programação própria, que a informação seja apresentada juntamente com os botões para o acionamento de partes do sistema, na forma de botões virtuais. Isto economiza espaço e facilita a limpeza da parte externa da cabine.

O sistema foi avaliado com testes elaborados sem que houvesse a necessidade de montagem na própria cabine, tornando a avaliação dos resultados fácil e rápida. Estes testes demonstraram que o sistema opera de maneira adequada e conforme o desejado, sendo útil, portanto, para que seja implementado em cabines reais, o que não foi realizado no presente trabalho devido à dificuldade de se obterem tais materiais, uma vez que costumam ter grandes dimensões.

REFERÊNCIAS

- SPLABOR; **Capelas de fluxo laminar x cabines de segurança**. https://www.splabor.com.br/arquivos/capelas_de_fluxo_laminar_x_cabines_de_seguranca.pdf
- BIOLAMBDA. **Biossegurança através de tecnologia ultravioleta**. São Paulo, SP. 2020. Disponível em: < <https://biolambda.com/> >. Acesso em: 25 de mai. 2021
- BOLTON, James R; COTTON, Christine A. **The Ultraviolet Disinfection Handbook**. 2008. 1 ed. American Water Works Association.
- FAGUNDES. **O espectro eletromagnético**. Efağundes. 2012. Disponível em: < <https://efagundes.com/networking/transmissao-sem-fio/o-espectro-eletromagnetico-iii/> >. Acesso em: 21 de mai. 2021
- FIRSTLIGHT. **High Output Lamps. 2012**. Disponível em: . Acessado em 15 de maio de 2021
- GOUVÊA, Marcos M; SILVA, Adalberto A; PEREIRA, Annibal D; MARQUES, Flávia F; LIMA, Gláycy S. **Aplicação da radiação ultravioleta como forma de contribuição para a química verde e construção de um reator fotoquímico alternativo e de baixo custo, para pré-tratamento de amostras**. 2013. Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, 24020-141 Niterói - RJ, Brasil.
- ANDERSEN, B. M. et al. **Comparison of UVC light and chemicals for disinfection of surfaces in hospital isolation units**. *Infect Control Hosp Epidemiol*, v. 27, p. 729-734, 2006.
- BURGENER, J. **Position paper on the use of ultraviolet lights in biological safety cabinets**. *Appl Biosafety*, v. 11, p. 228-30, 2006.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets**. 2nd ed. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia, 2000
- KIRCHHOFF, H. J. W. V. **Ozônio e Radiação UV-B**. Transitec Editorial, São José dos Campos/SP. 1995.

Beck, S., Wright, H., Hargy, T., Larason, T., and Linden, K. (2014). **Action spectra for validation of pathogen disinfection in medium-pressure ultraviolet (uv) systems.** Water research, 70C:27–37.

B.V, P. L. (2006). **Ultraviolet purification application information.** Technical report, PHILLIPS, Zwaanhoefstraat 2 4702 LC Roosendaal The Netherlands.

Tseng, C.-C. and Li, C.-S. (2005). **Inactivation of virus-containing aerosols by ultraviolet germicidal irradiation.** Aerosol Science and Technology - AEROSOL SCI TECH, 39:1136–1142

MICROCHIP.

PIC18F46J50.

<http://ww1.microchip.com/downloads/en/devicedoc/39931b.pdf>

TEXAS INSTRUMENTS (Estados Unidos).

MAX3232.

<https://www.ti.com/product/MAX3232>

ANEXO 1

Reação em Cadeia da Polimerase(PCR)

A técnica da reação em cadeia da polimerase é um sistema de amplificação in vitro de DNA, através do qual é possível se obter em poucas horas grandes quantidades de um determinado gene, ou parte dele, a partir de uma quantidade muito pequena de DNA (DE ROBERTIS & RIB, 2006).

A técnica consiste em três passos: a fita dupla de DNA é desnaturada pelo calor; em seguida, cada primer anela com uma das fitas de DNA, os primers anelados são então estendidos pela ação de uma DNA polimerase (ERLICH, 1995). Nesse processo o DNA é desnaturado a 95-97°C, os primers são hibridizados a 30-60°C e, posteriormente, a síntese de DNA é feita com DNA-polimerase e desoxirribonucleosídeos trifosfatos(dNTPs) a 72°. A repetição dessas etapas, por cerca de 20 a 30 ciclos permite a amplificação de um segmento de DNA (PASSAGLIA & ZAHA, 2001).

Os estudos iniciais com PCR para amplificar sequências específicas do DNA humano, utilizavam o fragmento de Klenow proveniente do DNA da polimerase I de *Escherichia coli*. Essa enzima não é termoestável, dessa maneira é necessário que seja adicionada depois da fase de desnaturação de cada ciclo. Isso foi eliminado com a introdução da polimerase termoestável isolada da bactéria termofílica *Thermus aquaticus*. O uso da Taq DNA polimerase transformou o PCR, permitindo o desenvolvimento de um ciclo térmico automático para que a amplificação fosse feita em um único tubo, contendo todos os reagentes necessários (ERLICH, 1995).

Não existe um protocolo único que seja apropriado para todas as situações. Consequentemente para cada nova aplicação do PCR, é necessário que seja feita uma otimização (INNIS & GELFAND, 1990).

A concentração apropriada de Taq DNA polimerase varia de 1 a 2,5 unidades para cada 100µL de reação (LAWYER et al. 1989 apud INNIS & GELFAND, 1990). Entretanto, a quantidade de enzima pode variar de acordo com os requerimentos da fita template e do primer. Quando se otimiza um PCR, se recomenda utilizar concentrações variando de 0,5 a 5 unidades para cada 100µL de reação testar os resultados com eletroforese em gel de agarose. Caso a concentração de enzima seja muito alta, produtos não específicos podem se acumular, caso seja muito baixa, uma quantidade insuficiente

do produto desejado pode ser formada (INNIS & GELFAND, 1990). Atualmente devido a ampla utilização dessa técnica, os volumes têm sido consideravelmente menores, variando entre 25 e 50 μ L.

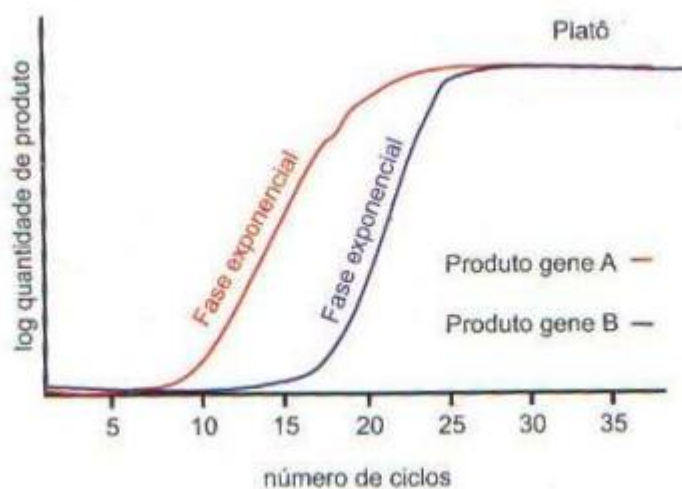
Estoques de desoxiribonucleotídeos trifosfato (dNTP) devem ser neutralizados em pH 7,0 e sua concentração deve ser estimada espectofotometricamente. A estabilidade dos dNTPs durante ciclos repetidos de PCR é tamanha que aproximadamente 50% permanecem com dNTPs após 50 ciclos (INNIS & GELFAND, 1990).

A concentração de magnésio pode afetar o anelamento dos primers, temperatura de dissociação das fitas, especificidade do primer e a fidelidade e atividade da enzima (INNIS & GELFAND, 1990).

Teoricamente, a quantidade de produto dobra a cada ciclo do PCR, porém, depois de um determinado número de ciclos, a eficiência de amplificação cai com o aumento da quantidade de ciclos, resultando no efeito platô. Diversos efeitos podem causar o efeito platô, entre eles a degradação dos nucleotídeos ou primers, inativação da DNA polimerase (Taq possui meia vida de 40 minutos a 95°C); reassociação de fitas simples antes do primers poderem se anelar ou ser estendidos; excesso de substrato; competição com produtos não específicos da amplificação; acúmulo de inibidores não específicos da amplificação; acúmulo de inibidores da polimerase, como pirofosfatos (GAUSE & ADAMOVICZ, 1994).

Dada a capacidade do PCR de gerar trilhões de cópias de DNA a partir de uma sequência template, a contaminação da amostra com o produto de uma PCR anterior, DNA ou material celular exógeno pode criar problemas tanto para a pesquisa, quanto para o diagnóstico. As precauções para diminuir o risco de contaminação incluem atenção aos procedimentos realizados no laboratório, separação física do local onde ocorre a preparação da reação do local onde ocorre a análise do produto do PCR, uso de pipetas precisas, organização das pipetas e uso de ponteiras protegidas (ERLICH, 1995).

A FiguraA a seguir mostra o resultado da amplificação da PCR



FIGURAA – Gráfico representando a amplificação de dois genes.

Fonte: ALVARES, 2001

A técnica de PCR está sendo muito utilizada atualmente para o diagnóstico de varias doenças, especialmente para a confirmação de contágio da COVID-19 e da INFLUENZA. Durante a pandemia foram realizados milhões de PCRs por todo mundo e cabines assépticas e de segurança biológica foram essenciais nesse processo.

