

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**DESINFECÇÃO DE GAZES CONTAMINADAS COM BACTÉRIAS E
FUNGO PELO FORNO DOMÉSTICO DE MICROONDAS**

VILSON HEINZEN CARDOSO

CRICIÚMA (SC), FEVEREIRO DE 2008

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**DESINFECÇÃO DE GAZES CONTAMINADAS COM BACTÉRIAS E
FUNGO PELO FORNO DOMÉSTICO DE MICROONDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Emilio Luiz Streck

Co-orientador: Prof. Dr. Felipe Dal-Pizzol

CRICIÚMA (SC), FEVEREIRO DE 2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

C268d Cardoso, Wilson Heinzen.

Desinfecção de gases contaminadas com bactérias e fungo pelo forno doméstico de microondas / Wilson Heinzen Cardoso; orientador: Emilio Luiz Streck, co-orientador: Felipe Dal-Pizzol. – Criciúma: Ed. do autor, 2008.

44 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma (SC), 2008.

1. Desinfecção. 2. Esterilização. 3. Esterilização por irradiação. 4. Tampões de gaze cirúrgico. I. Título.

CDD. 21ª ed. 614.48

Bibliotecária: Rosângela Westrupp – CRB 364/14ª -
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



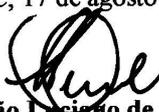
UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão
Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentada pelo candidato **VILSON HEINZEN CARDOSO**, sob o título: “**Desinfecção de gases contaminadas com bactérias e fungo pelo forno doméstico de micro-ondas**”, para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito **A**.

Criciúma, SC, 17 de agosto de 2007.


Prof. Dr. João Luciano de Quevedo
Membro Relator


Prof. Dr. Anny Nunes de Moraes
Membro Externo


Prof. Dr. Emilio Luiz Streck
Presidente da Banca e Orientador

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Emílio, pela paciência e companheirismo, também pela forma humilde como tem demonstrado ser e conduzido os trabalhos.

Ao meu co-orientador, Prof. Felipe e ao Prof. João Quevedo pela forma tranqüila com quem tem me conduzido até aqui.

Ao Carlos Roberto Damiani e ao João De Bona Castellan, colegas de curso e companheiro de muitos finais de semana, nas traduções de artigos e montagem de seminários.

A todos os colegas do Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, que com companheirismo e afinidade faziam as horas de aulas teóricas tornarem-se agradáveis e até, na maioria das vezes, engraçadas.

À Mônica, secretária do Mestrado em Ciências da Saúde, que com simpatia, zelo e competência, resolvia de imediato todos os problemas a ela dirigidos.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, principalmente ao Prof. Elídio Angioleto, com participação muito efetiva em todo o desenvolvimento do trabalho, juntamente com sua equipe de laboratório.

À Universidade do Extremo Sul Catarinense que possibilitou a realização deste projeto de pesquisa.

A meus filhos, por todas as horas de felicidade que me proporcionaram na vida.

Ao Grande Arquiteto do Universo, que tornou tudo isto possível.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Contaminação das gazes com suspensão de microorganismos.....25
- Figura 2:** Exposição da gaze contaminada à placa de Ágar sangue, após a exposição à radiação de microondas em diferentes tempos ou autoclave.....26
- Figura 3:** Exemplo de resultado das placas de Ágar sangue.....27
- Figura 4:** Exemplo de resultados dos tubos contendo meio BHI.....28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BHI - *Brain and Heart Infusion*.(Meio de cultura);

MO - Microondas

OEM - Ondas Eletro Magnéticas

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

RESUMO

A energia das microondas tem sido usada na esterilização e desinfecção há mais de 40 anos. Já foi demonstrada a sua efetividade para a eliminação de microorganismos em materiais de uso médico e hospitalar e até na descontaminação do solo. O efeito da energia radiativa do microondas na desinfecção de gazes contaminadas com *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foi avaliado nesse trabalho. A comparação com o método convencional, a esterilização úmida na auto-clave foi realizada. Gazes foram contaminadas com *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans* e expostas à radiação de microondas por 10, 20, 30 ou 60 segundos e à esterilização úmida convencional na auto-clave. Os resultados demonstraram que a exposição por 30 segundos foi eficaz na desinfecção das gazes contaminadas. Tempos menores de exposição não foram suficientes para a desinfecção, e tempos maiores danificaram as gazes. Os resultados também evidenciaram que a energia do microondas mostrou-se tão efetiva quando o modo convencional, a esterilização úmida em auto-clave. Esse trabalho está de acordo com a literatura, que tem demonstrado que as microondas podem ser usados na desinfecção e esterilização de vários materiais.

Palavras-chave: Desinfecção por microondas; Gaze; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*.

ABSTRACT

Microwave energy is widely used for sterilization and disinfection for more than 40 years. It has been already demonstrated that microwave is efficient for the elimination of organisms in medical and hospitalar materials and even in the descontamination of the soil. In this work we tested the effect of microwave energy on the disinfection of gauze contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. We also compared this method to the conventional one, humid heat sterilizer. Gauze were contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans* and exposed to microwave radiation for 10, 20, 30 or 60 seconds or to humid heat sterilizer. Results demonstrated that microwave exposure for 30 seconds showed good efficacy, even when compared to a classic sterilization method. Shorter times were not effective for the disinfection of the contaminated gauze. Larger times were shown to damage the gauze. Our results are in accordance to the literature, that clearly demonstrate that domestic microwave energy may be used for sterilization. Key words: Microwave disinfection. Gauze. *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*. *Candida albicans*.

Key words: Microwave disinfection; Gauze; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 JUSTIFICATIVA.....	11
3 DESINFECÇÃO POR MICROONDAS.....	14
3.1 Conceitos Fundamentais.....	14
3.2 Uso de Microondas na Esterilização e Desinfecção.....	14
4 OBJETIVOS.....	23
4.1 Objetivo Geral.....	23
4.2 Objetivos Específicos.....	23
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
5.1 Materiais.....	24
5.2 Métodos.....	24
CAPÍTULO I – ARTIGO.....	29
6 DISCUSSÃO.....	40
8 CONCLUSÕES.....	42
9 PERSPECTIVAS.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

A radiação eletromagnética por microondas tem sido usada para esterilização e é pesquisada há aproximadamente 45 anos (Morrisey e Herring, 2002). Vários estudos têm demonstrado a eficácia da radiação por microondas na destruição de bactérias e fungos. É o que se comprovou com os coliformes fecais presentes em resíduos sólidos compostos por materiais biológicos (Hong, Park e Lee, 2004). Neste trabalho, a intenção foi a comprovação da igualdade de eficiência entre o microondas e o sistema convencional de tratamento de resíduos infectantes, que é o método a vapor, ou autoclave, já largamente utilizado, porém tendo como fator limitante o custo do equipamento, o risco técnico no uso do autoclave e o custo operacional. A principal vantagem do microondas diz respeito à rapidez e leveza do equipamento, no quanto ele é mais barato e acessível para qualquer empresa, inclusive de administração pública.

Devido ao baixo custo do equipamento, a falta de mão-de-obra especializada, incluída aqui no custo de um procedimento cirúrgico em medicina veterinária, tem neste equipamento um grande aliado, sem perder em qualidade, no que diz respeito à desinfecção, e risco de contaminação do paciente.

2 JUSTIFICATIVA

Deve se considerar que existe muito trabalho ainda, até que esta técnica seja aceita pela ANVISA, ou que se passe a fazer uso rotineiro nos centros cirúrgicos ou outros locais pertinentes, como ambulatórios, consultórios odontológicos, etc. Devido à indefinição da relação tempo e volume, já que temos a eficácia a favor, precisam-se ainda estudos mais específicos para estabelecê-la. A pobreza de bibliografia nos indica que estamos no início dos estudos sobre desinfecção de tecidos não-sintéticos ou até outros materiais descartáveis que passam por processos de desinfecção e esterilização utilizados na área médica, e é absolutamente óbvio, que se tem muito a pesquisar e conhecer a respeito, até que se tenha domínio do processo de uso da radiação do microondas.

Comprovar a eficácia neste caso especificamente, a desinfecção de compressas cirúrgicas (gases de algodão), quanto seria mais fácil para melhorar a qualidade de um ambulatório público de prefeituras do interior, um consultório odontológico, sem citar as facilidades que este processo traria para a vida cotidiana, sempre com o objetivo de desinfecção de algum material que não se danificasse diante da radiação emitida pelo microondas.

Quando se aquece o leite de uma mamadeira para uma criança, por alguns segundos, pode-se estar concomitantemente promovendo a desinfecção, tanto da mamadeira como do conteúdo, ou qualquer uso similar, certamente terá resultado similar, evidentemente é assunto para futuras pesquisas. Outro exemplo ocorre principalmente em laboratórios de análises clínicas, em uma situação de emergência, ou de urgência de um exame, quando nos deparamos com a

necessidade de dois frascos de vidro estéreis e só temos um disponível, até ligar o autoclave a urgência deixaria de existir, certamente.

Na rotina de uma clínica veterinária é onde reside a raiz de nossa pesquisa. Procedimentos cirúrgicos dos mais diversos são realizados todos os dias, porém, um dos maiores problemas está sediado no custo desta cirurgia. É de interesse do profissional médico veterinário a realização dos trabalhos, porém um dos fatores mais limitantes está no custo dos procedimentos. Na busca do menor custo e conseqüentemente na maior margem possível, sem desprezar a assepsia e o máximo de desinfecção, ou até mesmo a esterilização, neste caso específico dos campos cirúrgicos e compressas de tecido algodão, o uso do forno de microondas tornar-se-ia o mais adequado, pela facilidade operacional, pelo baixo custo do equipamento, pela agilidade e pela rapidez. Consideremos que, se em um procedimento cirúrgico em andamento ocorre o término das compressas estéreis, porque foram usadas muitas na cirurgia anterior, por exemplo, basta que tenha alguma lavada e seca, para que em alguns segundos possa ser usada, sem colocar em risco o animal e nem a qualidade profissional comprometida pelo uso de material inadequadamente, o que significaria uma provável contaminação ou até morte do animal.

Vejamos uma outra condição rotineira em uma clínica, ou mesmo em um hospital para humanos. Uma compressa, fora utilizada na limpeza, ou drenagem de um abscesso, logo em seguida é descartada como resíduo infectante, porém isso só ocorre em países ricos e na teoria, na nossa realidade, este material é lavado, “autoclavado”, embalado e reutilizado. A nossa proposta é que este material seja lavado, embalado em papel pardo, exposto à radiação do microondas por pelo

menos trinta segundos e em tese está pronto para a reutilização sem risco para o paciente, médico ou outros envolvidos no processo.

3 DESINFECÇÃO POR MICROONDAS

3.1 Conceitos Fundamentais

O que chamamos de microondas, ou forno de microondas, agrupa alguns conceitos de física e especificamente eletricidade, já que o forno de microondas trata-se de um aparelho eletrodoméstico cujo objetivo hoje é de aquecer, cozinhar alimentos. Este aparelho produz esta energia calórica a partir do fornecimento de ondas eletromagnéticas a um determinado material que aumenta a vibração molecular causando atrito entre as moléculas, produzindo assim energia calórica. As ondas são oriundas de uma célula eletromagnética chamada de reator, que é onde as microondas se originam ou são produzidas, a partir de uma corrente elétrica alternada, emitindo assim vibrações em altíssima frequência e amplitude muito pequena, por isso o nome microondas. Inicialmente as microondas eram utilizadas na área de comunicação, como o caso de viagens para fora da atmosfera, pelo fato de estas microondas propagarem-se no vácuo.

3.2 Uso de Microondas na Esterilização e Desinfecção

De onde surgiu à idéia de converter um equipamento como o forno elétrico de microondas de uso doméstico em um aparelho para uso microbiológico, médico hospitalar, ou laboratorial, deixando de ser apenas para aquecimento rápido de materiais de ordem alimentar ou culinário? Certamente algum acidente ou descuido ou mera observação. Alguns pesquisadores já haviam pensado em algo

similar ou desenvolvido pesquisas nesta área. A idéia surgiu do fato de se saber que a radiação por microondas produz calor, muito, e em pouco tempo, calor desnatura proteínas, descaracterizando suas funções originais. Bactérias e fungos são microorganismos constituídos também por aminoácidos e conseqüentemente proteínas, certamente desnaturáveis pelo calor, ou destruídas pelas temperaturas altas, para as condições de vida conhecidas. Vejamos o que podemos entender sobre esta espécie física, que são as ondas eletromagnéticas.

São do conhecimento acadêmico que existem basicamente dois tipos de ondas, ondas mecânicas e ondas eletromagnéticas. Ondas mecânicas são provocadas em meios elásticos e se propagam através deles. Esse fenômeno ocorre apenas em meios materiais, isto é, as ondas mecânicas não se propagam no vácuo. A propagação de uma onda mecânica através de um meio material envolve o transporte de energia cinética e de energia potencial mecânica. Esse fato depende de dois fatores fundamentais: da inércia e da elasticidade do meio. As ondas em geral são medidas por dois aspectos, a freqüência e a amplitude. A freqüência mede a quantidade de unidades restritas a uma unidade de tempo, a amplitude se refere ao comprimento da onda, e o alcance depende da fonte e da forma, por exemplo, ondas eletromagnéticas são de freqüência muito alta, baixa amplitude e alcance praticamente infinito. O elemento produtor de ondas que se chama reator, as microondas em especial são ondas eletromagnéticas com freqüências na faixa de 10^9 Hz a 10^{12} Hz, e sua velocidade varia em torno de três vezes dez na oitava potência metros por segundo, e a amplitude é micro, por isso, microondas. A freqüência é medida em Hertz.

Industrialmente o reator de microondas tem sido utilizado como uma medida de economia, como fonte barata e rápida de energia térmica, cuja frequência nestes usos varia de 900 MHz a 2.450 MHz (Appleton et al, 2005).

Muitos experimentos têm sido realizados com o objetivo de utilizar a energia do forno de microondas doméstico para a esterilização e desinfecção. Sahin et al, (1998) fizeram experimentos na tentativa de desinfecção de sondas uretrais contaminadas com *E. coli* e *Enterobacter sp*, experimento este feito *in vitro* com resultados satisfatórios, pois conseguiu inibir 50% das colônias testadas. Esta pesquisa utilizou-se de pacientes com hipertrofia prostática, inflamatória ou tumoral, onde os mesmos são obrigados a fazer uso de sondas uretrais, caso contrário ficam impossibilitados do ato miccional, estes mesmos pacientes são acometidos de constantes cistites bacterianas, cuja etiologia mais freqüente é *E. coli* e *Enterobacter sp*. Nestes casos os pacientes muitas vezes não precisariam se deslocar até um hospital para fazer a troca da sonda uretral, procedendo a troca em suas próprias casas. Devido ao custo das sondas e da impossibilidade de descarte em uso único, o microondas entra como um equipamento que a maioria das pessoas já possui em sua residência como um eletrodoméstico corriqueiro das cozinhas em geral. Neste caso eles fizeram controle térmico da água embebendo as sondas por tempos iguais em duas temperaturas controladas, e diferentes, 30°C e 44°C, obtendo assim uma redução de 50% das colônias vivas. Este experimento foi feito *in vitro*. Os pesquisadores comentam que existem materiais que absorvem a radiação, como a água, que esquenta, e outro reflexivo, como o caso dos metais. Os materiais biológicos dependem da água que contém. O mecanismo de destruição dos microorganismos não é bem esclarecido, podendo ser por desnaturação da proteína que compõe o microorganismo ou por explosão causada pela concentração de

energia eletromagnética emitida pela máquina, e o alto coeficiente de dilatação da água, frente ao calor rapidamente produzido, o que em avaliação por microscopia eletrônica não ficou bem esclarecido.

Pavarina et al (2005) testaram o microondas como forma de Esterilização ou desinfecção de próteses dentárias e aparelhos ortodônticos e comparou com o uso de métodos químicos (cloro, glutaraldeído, hipoclorito de sódio...) que irritam tanto o material das próteses, oxidando-os, ou os pacientes, devido à alterações de sabor. Com seis minutos de exposição e com 650W como potência do aparelho, obtiveram esterilização ou destruição dos seguintes microorganismos testados: *S. aureus*, *P. aeruginosas*, *P. subtilis* e *C. albicans*. Neste trabalho, os pesquisadores também colocam que algumas resinas mostram aumento da resistência mecânica após algumas exposições a energia do microondas enquanto outras demonstraram perda de resistência, sendo que todas as próteses testadas foram fabricadas de acordo com as normas da *ISO-Standard 1567*, que regulamenta o uso e as proporções de mistura entre polímeros e monômeros, componentes das resinas acrílicas odontológicas.

Campanha et al, (2005), utilizaram de um forno de microondas doméstico de 650 W para esterilização de seis espécimes diferentes de acrílico (metacrilato), utilizados na produção de dentes e dentaduras, seis (6) minutos de exposição, imersos em água. Nara e seus associados observaram que algumas espécies de acrílico sofreram alterações de dureza, ou seja, sofreram amolecimento. O que ocorreu em uma frequência muito baixa em espécimes imersas em água por 90 dias sem nenhum tratamento ou tratadas com microondas, simulando o uso do material na boca ou em descanso em água com algum desinfetante em solução, como é comumente utilizado. Não só para isso, mas também para aumentar a dureza. Uma

justificativa para este teste está na ineficiência destas desinfecções por imersão em água com desinfetantes e a conseqüente e freqüente contaminação da boca, justificando como etiologia de estomatites, que é um dos grandes incômodos dos pacientes que utilizam estas próteses. No que o microondas entra como um equipamento que a maioria das pessoas pode adquirir, quando já não o tem e resolver este problema que é bastante incômodo.

Dixon, Breeding e Faler, (1999) obtiveram sucesso na desinfecção de material dentário colonizado por *Candida albicans* que contaminavam o material dentário com a exposição de microondas durante o tempo de cinco minutos com o material imerso em água. Nesta pesquisa eles dividiram em três grupos. Sendo o primeiro grupo, testando quinze espécies de acrílicos utilizados para a produção de próteses odontológicas (dentaduras ou próteses móveis), essas peças foram expostas por 5 minutos a seco. O segundo grupo utilizou-se também das quinze espécies de acrílico, porém o tempo de exposição foi maior, 15 minutos. No terceiro grupo as espécies de acrílicos foram expostas por 5 minutos, só que imersas em uma vasilha de cristal com água. Nos dois primeiros grupos foi verificada a redução das colônias, porém não houve a eliminação completa do agente testado, com um agravante, observou-se o aparecimento de fissuras e trincas nas peças acrílicas, o que é absolutamente indesejável. Já o terceiro grupo apresentou um resultado muito interessante, houve a eliminação das colônias e não fora observado nenhuma alteração física das peças, como fissuras e trincas, conforme ocorreu nos dois grupos anteriores.

Baysan, Whiley e Wright, (1998), observaram em seu trabalho que a desinfecção de material dentário, contaminada com *Cândida albicans* e *Staphilococcus aureus*, através da exposição à microondas por cinco minutos

reduziu o número de microorganismos viáveis que estavam aderidos ao material. Porém, a desinfecção com microondas foi menos efetiva quando comparada com a utilização de hipoclorito de sódio.

Segundo Awuah et al, (2005), embora exista uma semelhança entre as microondas e as ondas de rádio freqüência, esta tem uma vantagem adicional, de aquecer de maneira homogênia os alimentos, e o mais importante de tudo, alta penetração e profundidade o que poderia ser utilizado para esterilizar produtos líquidos. Neste teste os pesquisadores testam a capacidade esterilizante de ondas de Radio Freqüência para tratamento de leite contaminado por *E. coli* e *Listeria*, sendo a *E. coli* a mais sensível ao calor. Eles testaram em uma espécie de máquina, semelhante a um pasteurizador, onde o leite passa por lâminas em baixa velocidade, ficando exposto por mais ou menos 55 segundos, à radiação. Observou-se eficiência semelhante ao pasteurizador convencional, porém com expressivo, ganho em economia energética, visto que a rádio freqüência consome menos energia em sua produção do que um pasteurizador térmico, que é o que se usa normalmente pela indústria de laticínios.

Rutala e Weber (1999), relatam o uso do micro ondas no processo de desinfecção e esterilização, em que eles alertam sobre a diferença prática dos termos, onde eles definem esterilização como sendo a destruição completa de todos os microorganismos (principalmente os que esporulam) de uma solução, ou de um determinado ambiente ou objeto. Estes pesquisadores fazem referência a produtos que tenham sido usados por pacientes e que foram infectados pelos mesmos, fazem referência também aos produtos utilizados nos tratamentos destes produtos, como: Glutaraldeido, o peróxido de hidrogênio, o ácido paracético, o hipoclorito de sódio, o álcool, os iodoforos, os fenóis, e os compostos de amônia quaternária. A escolha do

produto está baseada no risco que este produto pode causar, na sua reutilização, ou mesmo apenas pelo contato, variando aí a concentração, o tempo de exposição, e a escolha do método e da substância a ser utilizada. Desinfecção por sua vez implica na eliminação de todos os microorganismos sejam patogênicos ou não, a exceção dos esporos bacterianos. Alguns fatores são importantes na eficiência ou eficácia da desinfecção ou esterilização, são eles: limpeza prévia do objeto, a carga orgânica e inorgânica, o tipo e o nível da contaminação microbiológica, a concentração e o tempo de exposição ao germicida; a natureza do objeto (por exemplo, fendas, dobradiças, furos); e a temperatura e o processo da desinfecção.

Cada um destes fatores pode limitar ou anular a eficácia do processo de desinfecção ou esterilização. Uma super simplificação, poderia definir que o que difere a desinfecção da esterilização seriam os esporos. A literatura científica colabora nesta matéria ao criar um manual que orienta para que se obtenha eficiência no uso dos microbiocidas nas áreas e pacientes internados e que sejam de alto risco. Onde se faz necessário o uso cíclico destes produtos, em artigos críticos (materiais de uso freqüente e sob risco constante de contaminação) Artigo crítico é como a literatura se refere a artigos (materiais) expostos à contaminação freqüente. Se tal artigo for contaminado com qualquer microorganismo incluindo esporos bacterianos. Assim é crítico que os objetos que incorporam o tecido estéril ou o sistema vascular também estejam estéreis.

Exatamente pelo risco que existe com a presença de um micro organismo na corrente circulatória, incluindo esporos de bactérias. Esta categoria inclui instrumentos cirúrgicos, catéteres cardíacos e urinários, implantes, e agulhas. A maioria dos artigos desta categoria é adquirida esterilizada ou esterilizada e autoclavado, se possível. Entre os esterilizantes existe o grupo dos esterilizantes

químicos, como: formulações de peróxidos, glutaraldeído. Uma esterilização química só é confiável se o processo for precedido de uma limpeza. Os artigos semicríticos só podem ser enxaguados em água estéril, para ter certeza de que não há nenhuma bactéria ou esporo envolvido no processo. Um outro método de esterilização utilizado pelos autores deste mesmo artigo é esterilização a quente, que por sua vez pode ser úmida ou seca. O seco tem como vantagem a não oxidação de materiais cortantes, e é bem mais penetrante que a esterilização úmida. Tem como desvantagem um maior consumo de tempo e energia.

As relações mais comuns entre tempo e temperatura para esterilização a seco são: 170°C por 60 minutos; 160°C por 120 minutos e 150°C por 150 minutos. Os esporos do *B. subtilis*, tem como prerrogativa de destruição a oxidação, o que torna a eficácia do calor seco duvidosa para esporos.

Banik, Bandyopadhyay e Ganguly, (2003) afirmam que o microondas é uma onda eletromagnética cuja frequência varia entre 300MHz ou 300 milhões de ciclos por segundo e 300GHz ou 300 bilhões de ciclos por segundo, o que causa diferentes efeitos em materiais biológicos, variáveis de acordo com a frequência, tempo de exposição, formas de ondas, e as diferentes modulações. A indústria de alimentos tem se utilizado da radiação do microondas para a esterilização tanto de embalagens como os próprios alimentos. Eles citam que a exposição de ratos a radiação do microondas causa alterações reprodutivas, stress, causando também a redução da atividade colinérgica central do sistema nervoso, principalmente hipocampo e córtex.

A ação da radiação do microondas mostrou-se muito eficaz na destruição de coliformes fecais presentes em resíduos sólidos compostos por materiais biológicos, metais e outras substâncias, foi o que verificaram Hong, Park e Lee em

2004. Um detalhamento maior, demonstra que os pesquisadores utilizaram uma espécie de lama colhida na tubulação de esgoto, onde as coletas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob refrigeração até serem testadas. Estes materiais contêm materiais patogênicos para os seres humanos como: vírus, bactérias, protozoas e helmintos. Todos estes materiais patogênicos devem ser reduzidos a uma quantidade, que não signifique risco a saúde pública, visando a utilização destes materiais como fertilizante de solo.

Diversas tecnologias têm sido aplicadas com o objetivo de reduzir patógenos e aumentar a digestão anaeróbia, simultaneamente, elevando assim a eficiência como fertilizante. A pasteurização tem sido uma técnica utilizada com este objetivo. Esta pasteurização tem sido usada em alguns países europeus, com auxílio de caldeiras. As microondas têm um uso muito amplo, até mesmo na desinfecção de resíduos sólidos, na desinfecção de lentes de contato flexíveis, na esterilização ou desinfecção de alimentos. Jones et al, (2001), descreve em sua revisão sobre as aplicações das microondas e sua importância na economia de energia e tempo que o processo proporciona. Ainda cita que é preciso obter-se mais conhecimento sobre a engenharia das microondas antes de qualquer processo que possa ser desenvolvido eficientemente em escala industrial.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Verificar a capacidade do forno doméstico de microondas de desinfetar gazes contaminadas com diversos microorganismos capazes de produzir doenças ou infecções nos animais e também no ser humano.

4.2 Objetivos Específicos

Verificar o efeito do tratamento com microondas em pequenas compressas de algodão (compressa de gaze hidrófila, 8 camadas, 11 fios por cm², 5 dobras) contaminadas com caldas de microorganismos em altas concentrações, simulando uma possível esterilização desses materiais utilizados freqüentemente em procedimentos cirúrgicos, sem passar pelo demorado processo de esterilização já conhecido que é a autoclavagem (umidade, calor e tempo).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

- ✓ 2 pinças
- ✓ Alça de Drigaski
- ✓ Autoclave
- ✓ Estufa 37 °C
- ✓ Forno de microondas
- ✓ Gazes estéreis
- ✓ Micropipeta de 100µL estéreis
- ✓ Micropipetador automático de 100 µL
- ✓ Microrganismos ativados (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*)
- ✓ Pipetador
- ✓ Pipetas de 2mL estéreis
- ✓ Placas contendo ágar sangue
- ✓ Placas de Petri estéreis
- ✓ Tubos de ensaio contendo meio nutriente BHI (*Brain and Heart Infusion*)
- ✓ Tubos para diluição contendo soro fisiológico estéril

5.2 Métodos

Para cada microrganismo foram utilizadas 2 gazes estéreis acondicionadas em uma placa de petri estéril com o auxílio de uma pinça, sendo que uma gaze

permanecia aberta e outra enrolada. Logo após o acondicionamento das gazes, estas foram contaminadas com 2mL de uma suspensão de microrganismo (escala 0,5 de Mac Farland).



Figura 1: Contaminação das gazes com suspensão de microrganismos

Após isto, cada uma das placas foi encoberta por papel pardo e exposta a um tempo específico no forno de microondas. Cada um dos microrganismos inoculados foi exposto à radiação de microondas (potência = 1000 W) nos seguintes tempos (em segundos): T0 (controle), T10, T20, T30 e T60.



Figura 2: Exposição da gaze contaminada à placa de Ágar sangue, após a exposição à radiação de microondas em diferentes tempos ou autoclave.

Após essa etapa, para cada placa, a gaze aberta foi colocada, ainda aberta, em uma placa contendo Agar sangue estéril e a gaze enrolada foi colocada em um tubo contendo BHI estéril.

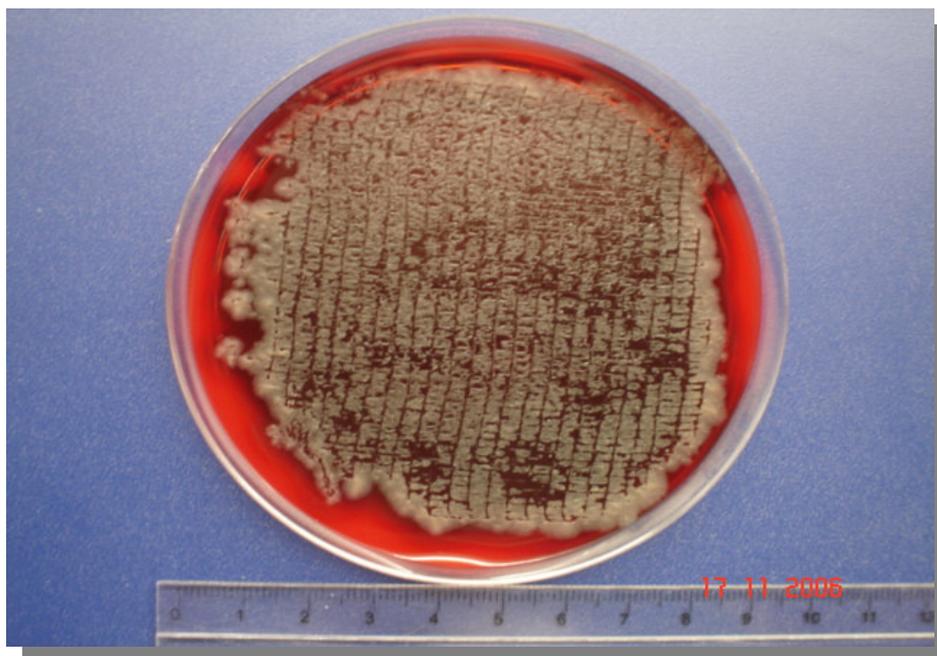


Figura 3: Exemplo de resultado das placas de Ágar sangue.

As placas e tubos permaneceram na estufa a 37 °C por 24 horas. No dia seguinte fez-se as leituras dos resultados, retirando-se as gazes das placas para observação da presença ou não de UFCs (Figura 3). Para os tubos foi observada a turvação do meio de cultura líquido, de modo que os tubos turvos eram descartados após anotar-se os resultados e os não turvos eram inoculados em 2 placas contendo agar sangue esteril (100µL para cada placa), para posterior leitura e confirmação da ausência de microrganismo naquele meio (Figura 4).

Para os testes comparativos entre autoclave e microondas, os procedimentos foram basicamente os mesmos, diferindo que as gazes foram divididas em: submetidas ao microondas e as autoclavadas.

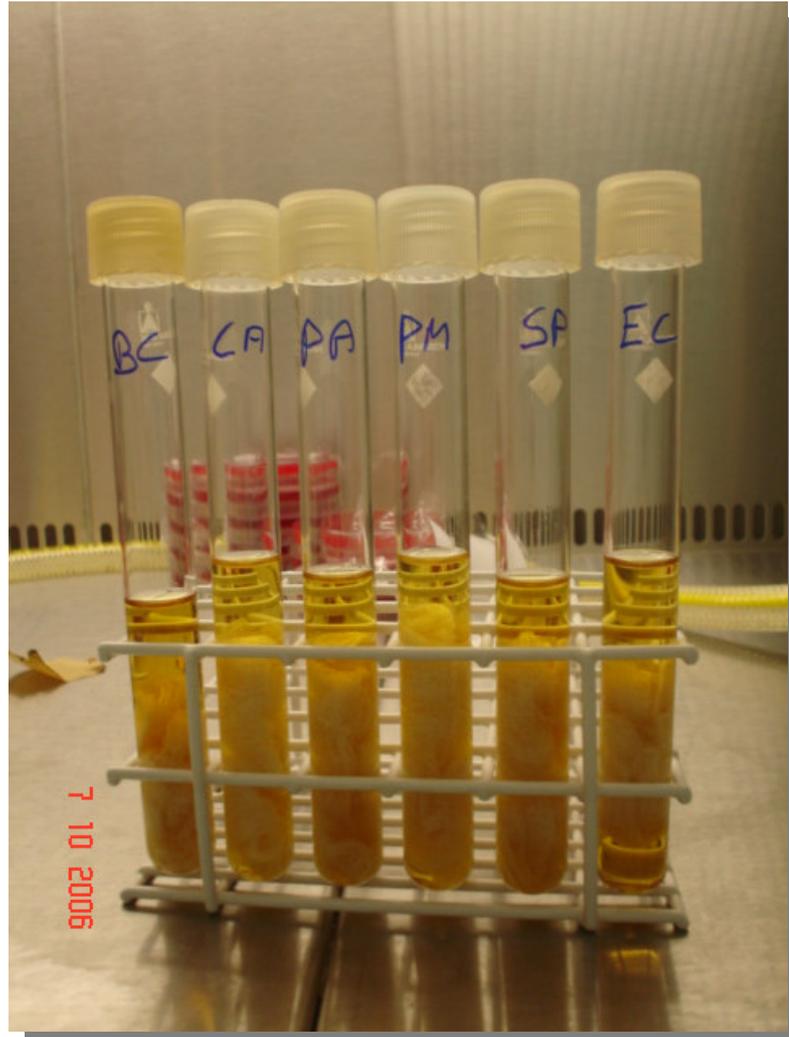


Figura 4: Exemplo de resultados dos tubos contendo meio BHI.

CAPÍTULO I – ARTIGO**Artigo aceito para publicação no periódico*****“Indian Journal of Medical Microbiology”***

Dear Dr. Streck,

The Editorial Board of Indian Journal of Medical Microbiology is pleased to inform you that your manuscript entitled Microwave disinfection of gauze contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*, with manuscript number IJMM_07_104, is acceptable for publication in the Journal.

We will be sending you the page proofs through the manuscript management site before publication of the manuscript. At that time, you may place the order for the extra reprints, apart from the 20 reprints and E-print to be purchased.

If you have not sent the copyright form signed by all the contributors and the images, if any, till now, you are requested to do so at the earliest.

Please note that the journal reserves the rights to make changes in the language, grammar, presentation, etc. to suit the journal's requirements.

We thank you for submitting your valuable research work to Indian Journal of Medical Microbiology.

With warm personal regards,

Yours sincerely,

The Editorial Team

Indian Journal of Medical Microbiology

Microwave disinfection of gauze contaminated with

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus or *Candida albicans*

Vilson H. Cardoso¹, M.Sc.; Davi L. Gonçalves², B.Sc.;

Elídio Angioletto², Ph.D.; Felipe Dal-Pizzol¹, Ph.D.;

Emilio L. Streck^{1*} Ph.D.

¹*Laboratório de Fisiopatologia Experimental, Universidade do Extremo Sul*

Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil;

²*Laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos,*

Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil.

*Corresponding author

Prof. Emilio L. Streck; Avenida Universitária, 1105, Laboratório de Fisiopatologia Experimental Experimental, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000, Criciúma, SC, Brazil. Fax: #55 48 3341 2750. e-mail: emiliostreck@terra.com.br

Running title: microwave and gauze disinfection

ABSTRACT

The use of radiation as a method of sterilization has increased enormously, especially in the last years. Evidence from the literature clearly demonstrate that domestic microwave energy may be used for sterilization. In this work we tested the effect of microwave energy on disinfection of gauze contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. We also compared this method to the conventional one, humid heat sterilizer. Results demonstrated that microwave exposure for 30 seconds showed good efficacy, even when compared to a classic sterilization method. Shorter times were not effective for the disinfection of the contaminated gauze.

Key words: Microwave disinfection; gauze; *Pseudomonas aeruginosa*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*.

INTRODUCTION

Commercial radiation has been used to sterilize medical products for more than 40 years.¹ Especially in the last years, the use of radiation as a method of sterilization has increased enormously. In this context, evidence from the literature clearly demonstrate that domestic microwave energy can be used for sterilization. It has been shown that microwave energy has an *in vitro* bactericidal effect on *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae* present in urethral probes.² In another paper, Trevors (1996) reports that microwave radiation has been experimented as a method to sterilize soil.³ Hong and colleagues (2004) also demonstrated that destruction of fecal coliforms from biosolids occurs after microwave irradiation.⁴ Besides, they showed that cell membrane damage increased as microwave irradiation intensity and temperature augmented. Finally, Ikawa and Rossen (1999) verified that heating a contaminated sponge for one minute in a microwave oven resulted in a significant reduction in the number of bacteria.⁵

There are also some works regarding microwave energy and sterilization of dental materials. In this context, Dixon and colleagues (1999) reported that denture base materials colonized with *Candida albicans* were disinfected by microwave energy.⁶ Another work performed by Baysan and colleagues (1998) showed that overnight soak in sodium hypochlorite solution was more effective than exposure to microwave energy for the reduction of the number of viable adherent microorganisms in soft lining material contaminated with *Candida albicans* or *Staphylococcus aureus*.⁷ It has also been demonstrated that microwave irradiation sterilized complete dentures contaminated with *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* and disinfected those contaminated with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*.⁸

Finally, Campanha and colleagues (2007) recently reported that microwave inactivated *Candida albicans* and damaged its cell membrane integrity.⁹

The equipment used in the routine of the sterilizations of surgical materials, such as gauzes, compresses and surgical fields, is the humid heat sterilizer (autoclaving), a very efficient method. The main purpose for using microwave oven for the sterilization of surgical materials is the time, since this procedure is usually too delayed when we use the humid heat sterilizer. Considering that there is a strong body of evidence showing that microwave energy may be used to disinfect medical products and that there is few information regarding its effect on gauze disinfection, the main objective of this work was to verify whether microwave energy is able to disinfect gauze colonized with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*. In this work, the effect of microwave oven treatment on gauze disinfection was also compared to a humid heat sterilizer (autoclaving), frequently used for this purpose.

MATERIAL AND METHODS

The species of microorganisms used in this study were *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Candida albicans* ATCC 10231. The microorganisms were previously grown in trypticase soy broth incubated at 37°C. The final cultures (after three consecutive daily transfers) were used in the experiment, and the microorganism concentration was adjusted to 0.5 points in MacFarland scale. Two mililiters of each microorganism or saline (control) solution were added to the gauzes.

After that, they were submitted to microwave oven treatment 1000 W for 10, 20, 30 and 60 seconds. The control samples were not submitted to this treatment. The gauzes were then inoculated in blood agar medium (solid) or brain and heart infusion (BHI) medium (liquid) and incubated at 37°C for 24 hours. Colony former units (CFU) were counted in blood agar plates and turbidity was evaluated in BHI tubes. All experiments were performed in quadruplicate.

RESULTS

Our results showed that exposure to microwave energy for 20 seconds was enough to inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. For *Candida albicans*, the minimum time necessary for inhibiting growth was 30 seconds (Figure 1). The results are the same for BHI tubes (data not shown). The exposure to 60 seconds was also evaluated. At this time, none of the microorganisms presented growth in blood agar plates or in BHI tubes. We verified that some of our samples were partially incinerated. Because of this, we choose 30 seconds of microwave energy as the best for disinfection of gauze.

In another set of experiments we compared the effect of exposure to microwave energy (for 30 seconds) with humid heat sterilizer. The same microorganisms concentration were adjusted to 0.5 points in MacFarland scale. Two milliliters of each microorganism or saline (control) solution were added to the gauzes. After that, they were submitted to microwave oven treatment 1000 W for 30 seconds or to with humid heat sterilizer (temperature of 121°C at 1.1 atm for a minimum of 20 to 30 minutes). The control samples were not submitted to any treatment. The

gauzes were then inoculated in blood agar plates or BHI tubes and incubated at 37°C for 24 hours. CFU were counted in blood agar plates and turbidity was evaluated in BHI tubes. In this experiment, we verified that both procedures were efficient for disinfection of these microorganisms, since none of the samples presented growth in blood agar plates (Figure 2) or in BHI tubes (data not shown).

DISCUSSION

Disinfection is defined as a process that eliminates many or all pathogenic microorganisms on inanimate objects with the exception of bacterial endospore. In the sterilization the endospore is also eliminated. The necessity for appropriate disinfection and sterilization procedures has been emphasized by various researchers. It is known that infection may occur after improper decontamination of these materials. Failures in these processes usually lead to institutional costs, patient morbidity, and even mortality. In this context, the effectiveness of sterilization must be the best as possible. For this purpose, autoclaving is widely used to sterilize surgical materials.¹⁰ In this work we demonstrated that domestic microwave oven presented good efficacy for disinfection of gauze previously contaminated with some microorganisms. As we did not test its effect on bacterial endospore, we still cannot affirm that this procedure sterilized the gauzes.

It has been demonstrated that microwave interacts with biologic tissue primarily by increasing its temperature.¹¹ Microwave also have nonthermal effects, responsible for the sterilization of contact lenses.¹² The domestic microwave oven has been shown to sterilize urethral probes.² Some reports also suggested that

nonthermal microwave effects produce various types of molecular transformations and alterations.¹¹ In this work we demonstrated that a domestic microwave oven disinfected gauzes colonized with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*. We believe that this material may be disinfected with exposure to microwave energy at the highest power (1000 W) for 30 seconds.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present work was supported by grants from Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

REFERENCES

1. Morrissey RF, Herring CM. Radiation sterilization: past, present and future. *Radiat Phys Chem* 2002; 63:207-21.
2. Sahin A, Eiley D, Goldfischer ER, Stravodimos KG, Zeren S, Isenberg HD, Smith AD. The *in vitro* bactericidal effect of microwave energy on bacteria that cause prostatitis. *Urology* 1998; 32:411-5.
3. Trevors JT. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. *J Microbiol Meth* 1996; 23:53-9.
4. Hong SM, Park JK, Lee YO. Mechanisms of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliforms from biosolids. *Water Res* 2004; 38:1615-25.

5. Ikawa JY, Rossen JS. Reducing bacteria in household sponges. *J Environ Health* 1999; 62:18-22.
6. Dixon LD, Breeding LC, Faler TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *J Prosthet Dent* 1999; 81:207-14.
7. Baysan A, Whiley R, Wright PS. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft ling material contaminated with *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *J Prosthet Dent* 1998; 79:454-8.
8. Silva MM, Vergani CE, Giampaolo ET, Neppelenbroek KH, Spolidorio DM, Machado AL. Effectiveness of microwave irradiation on the disinfection of complete dentures. *Int J Prosthodont* 2006; 19:288-93.
9. Campanha NH, Pavarina AC, Brunetti IL, Vergani CE, Machado AL, Spolidorio DM. *Candida albicans* inactivation and cell membrane integrity damage by microwave irradiation. *Mycoses* 2007; 50:140-7.
10. Rutala WA, Weber DJ. Infection control: the role of disinfection and sterilization. *J Hosp Infect* 1999; 43:S43-S55.
11. Banik S, Bandyopadhyay S, Ganguly S. Bioeffects of microwave – a brief review. *Bioresource Technol* 2003; 87:155-9.
12. Rohrer MD, Terry MA, Bulard RA, Graves DC, Taylor EM. Microwave sterilization of hydrophilic contact lenses. *Am J Ophthalmol* 1986; 101:49-57.

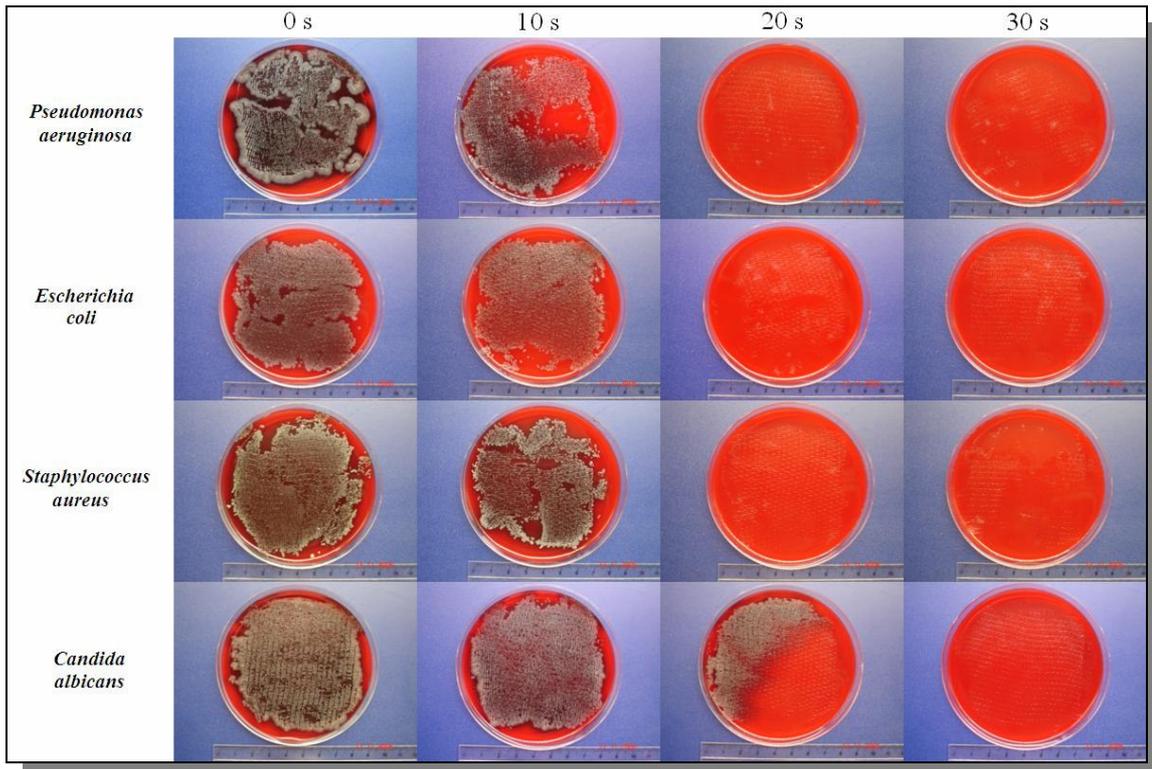


Figure 1: Effect of microwave energy oven treatment (for 0, 10, 20, 30 and 60 seconds) on gauze disinfection previously contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans*. The photographs are representative of four independent samples.

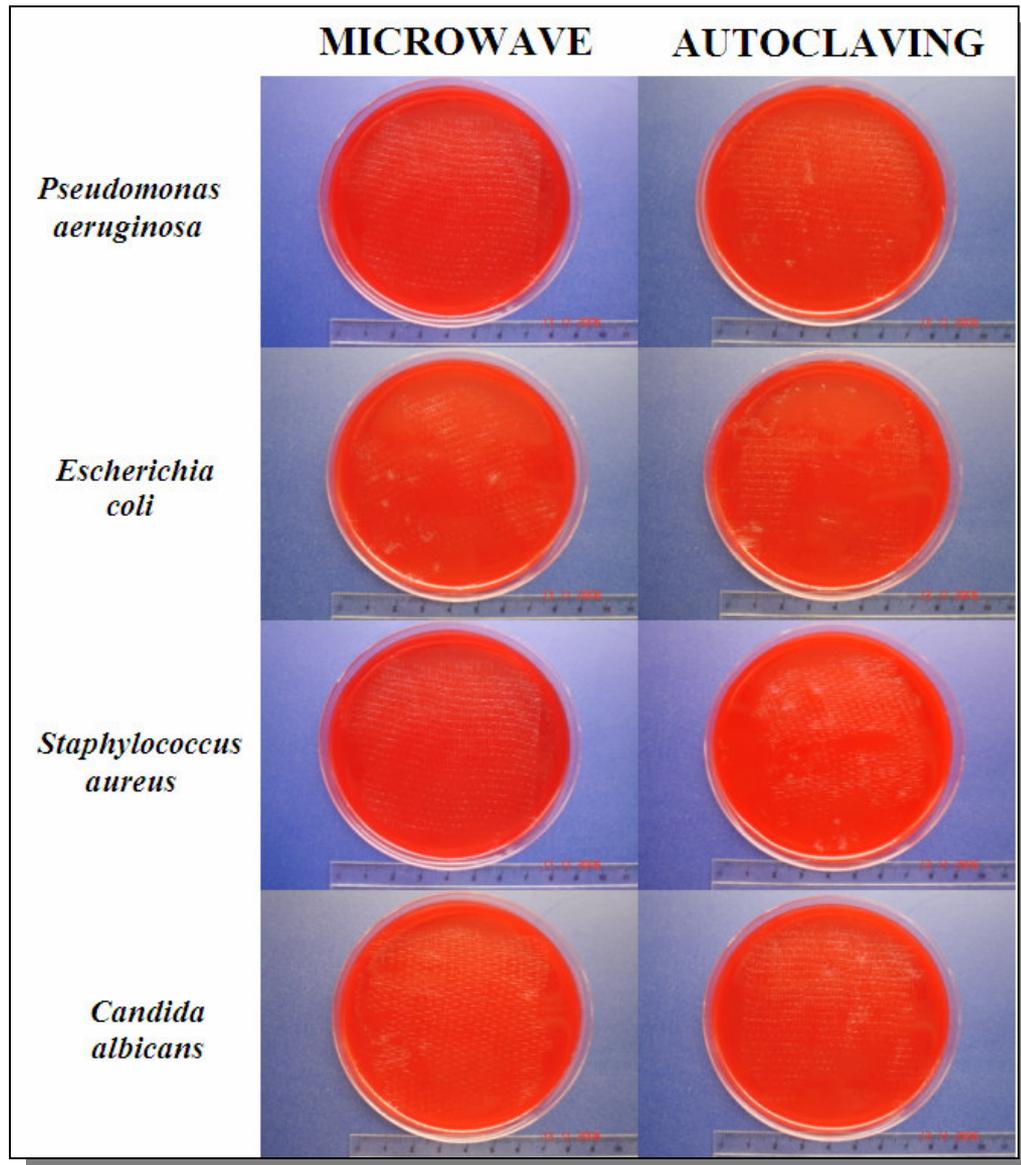


Figure 2: Effect of microwave energy oven treatment (for 30 seconds) on gauze disinfection previously contaminated with *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* or *Candida albicans* compared to a humid heat sterilizer method (autoclaving). The photographs are representative of four independent samples.

6 DISCUSSÃO

Segundo Banik, Bandyopadhyay e Ganguluy, (2003), o que aconteceu com os micro organismos, sob o efeito da radiação produzidas pelo microondas, é um aumento da aceleração entre os íons, o que aumenta a força de colisão com as moléculas (2450 milhões de vibrações por segundo), o que promove um imediato aumento da temperatura, levando a desnaturação das proteínas que compõem os microorganismos. O que se acredita justificar a destruição dos microorganismos em tão pouco tempo de exposição à radiação.

Conforme o que se propôs, a exposição de compressas de gaze de algodão a radiação do microondas, em comparação com o uso do autoclave, com o mesmo objetivo, desinfecção, estabelecendo-se um tempo mínimo de segurança, fora totalmente procedente, visto que conforme apresentado nos resultados (figuras: 3, 4, 5 e 6 e figuras 1 e 2) o único micro organismo que ainda fora um pouco resistente, foi o fungo (figura 1), mas também morreu no tempo seguinte.

As compressas de gaze tratadas no autoclave obtiveram desinfecção, assim como todas as tratadas por 30 (trinta) segundos ou mais no microondas, esta afirmação foi comprovada com a tentativa de cultura de uma possível sobrevivente, nos tubos com BHI, logo após a observação dos meios de cultura tanto os líquidos, quanto os sólidos, ou mesmo pela absoluta ausência de colônia nos meios em que foram depositadas as gases que após embebidas em solução rica em bactérias e fungo (escala 0,5 de Mac Farland) e tratadas com tempo superior a 30 segundos.

O que não se tem medido, mas agora sabemos ser possível, é se o tempo utilizado para uma gaze muito contaminada, como a que fizemos uso neste experimento, é o mesmo que seria necessário para desinfetar um campo com

densidade de tecido maior, porém com contaminação menor, ou uma quantidade maior de gazes expostas juntamente. Não sabemos ainda, este experimento não nos permite concluir. O que se sabe, é que a radiação por microondas destrói bactérias e fungos, com alguns segundos, conforme apresentado, preservando o material de base, como o que fizemos uso, gaze hidrófila de algodão. Outras formas de apresentação de tecidos, outras variedades de tecidos e materiais devem ser evidentemente testadas a partir daqui, já que se provou a capacidade de desinfecção das microondas, sobre tecidos. É evidente, mas requer trabalhos mais específicos, quando se pensa em esterilização, materiais plásticos, vidrarias e quem sabe até metais, como instrumentais cirúrgicos. Juntando-se o que já foi realizado em termos de pesquisa, há muito que fazer ainda, possivelmente se está pesquisando apenas com os primeiros passos de um universo muito grande, como outras formas de apresentação das microondas, diferentes de reatores e fornos.

8 CONCLUSÕES

Podemos verificar, que a radiação produzida por forno de microondas doméstico é capaz de destruir bactérias e fungos contidos em solução embebendo gaze hidrófila, por tempo determinado, à partir de trinta (30) segundos.

9 PERSPECTIVAS

São boas e paradoxalmente não são boas. São boas quando concluímos que a radiação por microondas é capaz de destruir incontáveis microorganismos em um tempo muito curto de exposição. Não são boas quando pensamos que o universo de pesquisa neste minúsculo assunto, está resumido a pequenos ensaios, e que há um trabalho muito gigantesco ainda pela frente, para se atingir uma amplitude adequada de uso hospitalar. Para se usufruir tudo o que esta energia é capaz de fornecer, está lançado apenas uma semente ao solo, há muito que crescer, que pesquisar e evoluir.

REFERÊNCIAS

- APLETON TJ; COLDER RI; KINGMAN SW; LOWNDES IS; READ AG. Microwave technology for energy-efficient processing of waste. **Applied energy**, 81:85-113, 2005.
- AWUAH GB; RAMASWAMY HS; ECONOMIDES A; MALLIKARJUNAN K. Inactivation of *Escherichia coli* k-12 and *Listeria innocua* in milk use radio frequency (RF) heating. **Innovate Food Science & Emerging Technologies**, 6:396-402, 2005.
- BANIK S; BANDYOPADHYAY S; GANGULUY S. Bioeffects of microwave – a brief review. **Bioresource Technology**, 87:155-159, 2003.
- BAYSAN A; WHILEY R; WRIGHT PS. Use of microwave energy to disinfect a long-term soft ling material contaminated with *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, 79(4):454-458, 1998.
- BÔAS NV; DOCA HD; BISCUOLA GJ. **Tópicos de Física 2**. 12ed. Editora Saraiva, São Paulo-SP; p.163.
- CAMPANHA NH; PAVARINA AC; VERGANI CE; MACHADO, AL. Effect of microwave sterilization and water storage on the Vickers hardness of acrylic resin denture teeth. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, 93(5):483-487, 2005.
- DIXON LD; BREEDING, LC; FALER, TA. Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, 81(2):207-214, 1999.

HOLANDA ABO dicionário de língua Portuguesa. **Novo Aurélio**, ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro - RJ, Brasil, p.1333, 1999.

HONG SM; PARK JK; LEE YO. Mechanisms of microwave irradiation involved in the destruction of fecal coliforms from biosolids. **Water Research**, 38:1615-1625, 2004.

IWAGUSH S; MATSUMURA K; TOKUOKA Y; WAKUI S; KAWASHIMA N. Sterilization system using microwave and UV light. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, 25:299-304, 2002.

JONES DA; LELYVELD TP; MAVROFIDS SD; KINGMAN SW; MILES NJ. Microwave heating applications in environmental engineering – a review. **Resources, Conservation and Recycling**, 35:75-90, 2002.

MORRISSEY RF; HERRING CM. Radiation sterilization: past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**, 63:207-221, 2002.

PAVARINA AC; NEPPELENBROEK KH; GUINESI AS; VERGANI CE; MACHADO AL; GIAMPAOLO ET. Effect of microwave desinfect on the flexural strength of hard chairside relines resins. **Journal of Dentistry**, 33:741-748, 2005.

RUTALA WA; WEBER DJ. Infection control: the role of disinfection and sterilization. **Journal of Hospital Infection**, 43:43-55, 1999.

SAHIN A; EILEY D; GOLDFISCHER ER; STRAVODIMOS KG; ZEREN S; ISENBERG HD; SMITH AD. The in vitro bactericidal effect of microwave energy on bacteria that cause prostatitis. **Adult Urology**, 32:411-415, 1998.

TREVORS JT. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. **Journal of Microbiological Methods**, 23:53-59, 1996.