

Universidade Brasil - Campus Itaquera
Instituto Científico e Tecnológico da Universidade Brasil
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica

Síntese e análise microbiológica de substratos poliméricos recobertos com filmes ultrafinos de TiO_2 pela tecnologia de deposição por camada atômica

SARAÍ DE BRITO CARDOSO

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sávio Pessoa
Co-orientador: Prof. Dr. Homero Santiago Maciel

São Paulo, SP
2020

***Synthesis and microbiological analysis of polymeric substrates
coated with ultrathin TiO₂ films by atomic layer deposition
technology***

SARAÍ DE BRITO CARDOSO

**Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Biomédica da Universidade
Brasil, como parte dos requisitos
necessários para obtenção do título de
Doutora em Engenharia Biomédica.**

Área de Concentração: Dispositivos e Sistemas Biomédicos.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sávio Pessoa

Co-orientador: Prof. Dr. Homero Santiago Maciel

São Paulo, SP
2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

C267s CARDOSO, Saraí de Brito
Síntese e análise microbiológica de substratos poliméricos recobertos com filmes ultrafinos de TiO₂ pela tecnologia de deposição por camada atômica / Saraí de Brito Cardoso. -- São Paulo, 2020.
75 f.: il. color.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Sávio Pessoa.

Coorientação: Prof. Dr. Homero Santiago Maciel.

1. Filmes finos. 2. Deposição por camada atômica. 3. Dióxido de titânio. 4. Candida albicans. 5. Poliuretano. I. Pessoa, Rodrigo Sávio. II. Maciel, Homero Santiago. III. Título.

CDD 620.82

TERMO DE APROVAÇÃO

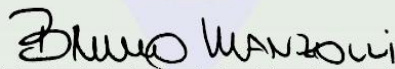
SARAÍ DE BRITO CARDOSO

“SÍNTESE E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SUBSTRATOS POLIMÉRICOS RECOBERTOS COM FILMES ULTRAFINOS DE TiO₂ PELA TECNOLOGIA DE DEPOSIÇÃO POR CAMADA ATÔMICA”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



Prof(a). Dr(a) Rodrigo Sávio Pessoa (presidente-orientador)

Prof(a). Dr(a) Homero Santiago Maciel (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Bruno Vinícius Manzoli Rodrigues (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Anelise Cristina Osório Cesar Doria (UNIVAP)

Prof(a). Dr(a) William Chiappim Júnior (UNIVERSIDADE DE AVEIRO/PORTUGAL)

São Paulo, 28 de agosto de 2020.

Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Rodrigo Sávio Pessoa

Houve alteração do Título: sim () não (x):





Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **“SÍNTESE E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SUBSTRATOS POLIMÉRICOS RECOBERTOS COM FILMES ULTRAFINOS DE TiO₂ PELA TECNOLOGIA DE DEPOSIÇÃO POR CAMADA ATÔMICA”**

Autor(es):

Discente: **Saraí de Brito Cardoso**

Assinatura: Saraí de Brito Cardoso

Orientador(a): **Prof.(a) Dr.(a) Rodrigo Sávio Pessoa**

Assinatura: Rodrigo Sávio Pessoa

Coorientador(a): **Prof.(a) Dr.(a)**

Assinatura: _____

Houve alteração do Título: sim () não ():

Data: 28/08/2020



RESUMO

Candida albicans é responsável por crescentes taxas de infecções oportunistas, seu alto potencial de patogenicidade e virulência se dá pela sua capacidade de formação de biofilmes, os quais podem crescer em dispositivos médico hospitalares fabricados a partir de polímeros como o poliuretano (PU) e o polidimetilsiloxano (PDMS). A necessidade do uso desses dispositivos na maioria dos tratamentos de saúde e alta resistência à terapia antifúngica requerem novas tecnologias para reduzir os índices de infecções e suas complicações. Assim, objetivou-se neste trabalho de tese, investigar o crescimento e as propriedades de filmes ultrafinos de dióxido de titânio (TiO_2) pela técnica de deposição por camada atômica (ALD) sobre substratos de PU e PDMS e discutir seus efeitos sobre o crescimento e o processo de inativação, em caso de contaminação, por biofilme de *C. albicans*. Para isso, ensaios físicos, químicos e microbiológicos foram realizados. No processo de crescimento ALD do filme de TiO_2 , vapores de tetracloreto de titânio (TiCl_4) e água (H_2O) foram utilizados como precursores. Todos os processos foram realizados a uma temperatura fixada em 80°C , enquanto o número de ciclos de reação para crescimento dos filmes variou de 500 a 2000, em intervalos de 500 ciclos. Para análise microbiológica, leveduras de cepas padrão de *Candida albicans* (ATCC® 10231) foram cultivadas em substratos não recobertos e recobertos com TiO_2 , e as atividades antifúngicas e fotocatalíticas destes, foram investigadas por meio do método de contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) antes e após o tratamento com luz ultravioleta (UV). Realizou-se análise Termogravimétrica (TGA) dos substratos, Espectroscopia Raman, Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia de Retroespalhamento Rutherford (RBS) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para avaliar a composição elementar, a estrutura do material, as ligações químicas, cinética de crescimento, o ângulo de contato, o trabalho de adesão e a morfologia da superfície dos filmes finos. Foram obtidos filmes finos, com espessuras variadas, de TiO_2 amorfo dopados com cloro (2-12%) em substratos poliméricos. Análises dos materiais após o recobrimento com filmes ultrafinos de TiO_2 por ALD e exposição à contaminação pelo fungo *Candida albicans*, constataram a supressão da transição levedura-hifa nas amostras de PU e a redução de colônias de 79 a 83%, nos substratos de PDMS recobertos após o tratamento com luz UV. Portanto, pode-se inferir que filmes de TiO_2 amorfo dopado com cloro, crescidos por ALD, em superfícies poliméricas biomédicas tem propriedades fungistáticas e quando irradiados com luz UV, no caso de contaminação, apresentam propriedades antifúngicas.

Palavras-chave: Filmes finos, Deposição por camada atômica, Dióxido de titânio, *Candida albicans*, Poliuretano, Polidimetilsiloxano

ABSTRACT

Candida albicans is responsible for increasing rates of opportunistic infections, its high potential for pathogenicity and virulence is due to its ability to form biofilms, which can grow in hospital medical devices manufactured from polymers such as polyurethane (PU) and polydimethylsiloxane (PDMS). The need to use these devices in most health treatments and high resistance to antifungal therapy requires new technologies to reduce the rates of infections and their complications. Thus, the objective of this thesis was to investigate the growth and properties of ultrafine titanium dioxide (TiO₂) films by the atomic layer deposition (ALD) technique on PU and PDMS substrates and discuss their effects on growth and the process of inactivation, in case of contamination, by *Candida albicans* biofilm. For this, physical, chemical and microbiological tests were performed. In the ALD growth process of the TiO₂ film, titanium tetrachloride (TiCl₄) and water (H₂O) vapors were used as precursors. All processes were carried out at a temperature set at 80°C, while the number of reaction cycles for film growth varied from 500 to 2000, at intervals of 500 cycles. For microbiological analysis, yeasts of standard strains of *C. albicans* (ATCC® 10231) were grown on uncoated and TiO₂-coated substrates and their antifungal and photocatalytic activities were investigated using the colony-forming unit (CFU) counting method before and after treatment with ultraviolet light (UV). Thermogravimetric analysis (TGA), Raman Spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Rutherford Backscattering Spectroscopy (RBS) and Scanning Electron Microscopy (SEM) of the substrates were carried out to assess the elemental composition, material structure, chemical bonds, growth kinetics, contact angle, adhesion work and surface morphology of thin films. The results evidenced that chlorinated doped (2-12%) amorphous TiO₂ thin films, with varying thicknesses, were obtained on polymeric substrates. Analysis of the materials after coating with ultrathin TiO₂ films by ALD and exposure to contamination by the fungus *Candida albicans*, found the suppression of the yeast-hypha transition in the PU samples and the reduction of colonies from 79 to 83% on the TiO₂-covered PDMS substrates after UV light treatment. Therefore, it can be inferred that films of amorphous TiO₂ doped with chlorine, grown by ALD, on biomedical polymeric surfaces have fungistatic properties and when irradiated with UV light, in the case of contamination, have antifungal properties.

Keywords: Thin films, Atomic layer deposition, Titanium dioxide, *Candida albicans*, Polyurethane, Polydimethylsiloxane

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Foram obtidos filmes finos, em espessuras variadas, de dióxido de titânio amorfo impregnados com cloro em polímeros (poliuretano e PDMS), a fim de investigar a inativação de fungos pelo processo nano tecnológico de recobrimento de superfícies, denominada deposição por camada atômica. Esses filmes foram produzidos a temperaturas de 80°C. Análises dos materiais após o recobrimento com filmes ultrafinos de TiO₂ e exposição à contaminação pelo fungo *Candida albicans*, constataram a supressão da formação de colônias desta cepa nas amostras de poliuretano e a redução de colônias nos substratos de PDMS recobertos após o tratamento com luz ultravioleta. Os resultados apontaram que filmes de dióxido de titânio amorfo dopado com cloro crescidos em superfícies de dispositivos médicos podem atuar inibindo a contaminação pelo fungo. Além disso, quando tratados com luz ultravioleta, atuam na sua eliminação, comprovando os efeitos antifúngicos das reações entre alguns materiais recobertos com o dióxido de titânio e a luz UV (processo fotocatalise).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (a) Infecção relacionada ao tubo biliar: imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando um biofilme de <i>Candida albicans</i> crescido na superfície de um <i>stent biliar</i> ; (b) Imagem de microscopia eletrônica de varredura Biofilme de <i>Staphylococcus aureus</i> crescido na superfície de um cateter intravascular.....	17
Figura 2: Principais morfologias assumidas por espécies de <i>Candida spp.</i> (A) leveduras. (B) pseudohifas. (C) hifas verdadeiras	17
Figura 3: Representação esquemática da formação de biofilme.....	19
Figura 4: Imagem de cateter venoso central de duas vias.....	20
Figura 5: Obstrução da porta venosa do cateter totalmente implantável devido à formação de biofilme.....	21
Figura 6: Formas de contaminação por cateter venoso central.....	22
Figura 7: Representação esquemática do processo de fotocatalise.....	27
Figura 8 - Representação para o TiO_2 nas fases anatase (a), rutilo (b) e brooquita (c) onde as esferas azuis representam os átomos de Titânio e as esferas vermelhas os átomos de Oxigênio.....	28
Figura 9: Diferenças de processo CVD e ALD.....	32
Figura 10: Esquema do reator ALD operando em modo térmico, com fluxo cruzado dos gases pulsados.....	33
Figura 11: Imagem do sistema ALD.....	34
Figura 12: Diagrama esquemático do Reator ALD TFS 200. Deposição de filme fino TiO_2 pelos precursores $TiCl_4$ e H_2O , pulsos de 0,25s respectivamente intercalados com purga de 2s de gás N_2 . Ciclos de reação: (TC1: 500 ciclos, TC2: 1000 ciclos, TC3: 1500 ciclos, TC4: 2000 ciclos)	38
Figura 13 (a, b) – Análise termogravimétrica (dTG) de substratos PU e PDMS (atmosfera de N_2 a 50 mL min^{-1} e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$) e (c) Espectros FTIR da fase gasosa durante o processo de aquecimento de substratos de PU e PDMS.....	42
Figura 14: Espectro Raman de substratos PDMS e PU não recobertos (a) e recobertos de TiO_2 (b).....	43

Figura 15: Espectros FTIR de substratos de PU não recobertos e recobertos por TiO ₂ (a,b) e Espectro FTIR de substratos de PDMS não recobertos e recobertos por TiO ₂ (c,d).....	45
Figura 16: Espectros RBS de substratos de TiO ₂ /PU, TiO ₂ /PDMS e TiO ₂ /Silício(100). O filme de TiO ₂ cresceu em condições de 2000 ciclos de reação.....	48
Figura 17: Espessura dos filmes de TiO ₂ crescidos sobre os substratos de PU, PDMS em função do número de ciclos ALD. O GPC dos filmes de TiO ₂ crescidos em substrato de Silício (100) foi considerado para comparação.....	49
Figura 18: Composição elementar (em %) de filmes finos de TiO ₂ obtidos por Espectro RBS em função do número de ciclos de reação para substratos de Silício(100), PU e PDMS. Titânio (a), Oxigênio (b), e Cloro (c).....	51
Figura 19: Ângulo de contato e energia de superfície para ambos os substratos: (a) PU controle e PU recoberto por TiO ₂ ; (b) PDMS controle e PDMS recoberto por TiO ₂ , em função do número de ciclos.....	53
Figura 20: Trabalho termodinâmico de adesão entre as cepas de <i>Candida albicans</i> . e as superfícies das amostras não recobertas e recobertas com TiO ₂	55
Figura 21: Contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)/mL de leveduras de <i>Candida albicans</i> cultivadas nas amostras não recobertas (controle) e nos substratos recobertos com TiO ₂	56
Figura 22: Micrografias por MEV de leveduras de <i>Candida albicans</i> cultivadas nas amostras de substratos controle e substratos de PU e PDMS recobertos com TiO ₂	57
Figura 23: Porcentagem de redução das colônias de <i>Candida albicans</i> em substratos de PU e PDMS não recobertos (controle) e recobertos com TiO ₂ após exposição a UV.....	58
Figura 24: Micrografias MEV de amostras PU (controle e recobertas com TiO ₂) contaminadas por <i>Candida albicans</i> após exposição à radiação UV.....	60
Figura 25: Micrografias de MEV de amostras PDMS (controle e recobertas com TiO ₂) contaminadas por <i>Candida albicans</i> após exposição à radiação UV.....	61

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Infecções fúngicas relacionadas a <i>Candida albicans</i> em dispositivos médicos.....	16
2.2 Novas estratégias de combate à contaminação por microrganismos e formação de biofilme	24
2.2.1 Fotocatálise.....	25
2.2.2 Dióxido de Titânio (TiO ₂)	27
2.2.3 Deposição por camada atômica (ALD)	30
3 MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS.....	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Preparação dos substratos poliméricos e crescimento de filmes finos de TiO ₂ por ALD sobre substratos PU e PDMS.....	37
4.2 Técnicas de caracterização de materiais.....	38
4.3 Ensaios microbiológicos: crescimento e tratamento do biofilme de <i>Candida albicans</i> com luz ultravioleta	39
4.4 Processo de inativação de <i>Candida albicans</i>	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1 Avaliação de Termogravimetria dos substratos PU e PDMS.....	41
5.2 Análises Espectroscopia Raman e Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos substratos não recobertos e recobertos com TiO ₂	43
5.3 Análise espectroscopia de Retroespalhamento Rutherford (RBS): determinação da espessura do filme TiO ₂ e composição elementar dos substratos recobertos pelo filme TiO ₂ Análise RBS: determinação da espessura do filme TiO ₂ e composição elementar dos substratos e do filme TiO ₂	46
5.4 Ângulo de contato, trabalho de adesão e crescimento de <i>Candida albicans</i>	52
5.5 Análises MEV das superfícies contaminadas por <i>Candida albicans</i> após tratamento com radiação UV	58

6 CONCLUSÃO	62
7 TRABALHOS FUTUROS.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

O patógeno *Candida albicans* é o mais comum das seis espécies de levedura que fazem parte da microbiota do corpo humano, colonizando a pele e mucosas bucal, trato digestivo, urinário e genital de maneira assintomática. São responsáveis por causar infecções oportunistas que implicam em alto índice de mortalidade, quando há comprometimento imunológico e enfermidades graves associadas, retratando um grave problema de saúde pública. (FERNANDES *et al.*, 2016; FATHI *et al.*, 2016; MAGALHÃES *et al.*, 2015).

A virulência da *Candida albicans* é atribuída à sua capacidade de formação de biofilmes, estes consistem em comunidades de células estruturadas que se aderem aos tecidos do hospedeiro ou em uma variedade de dispositivos médicos hospitalares, podendo causar infecções sistêmicas ((PAIS *et al.*, 2016; CHIN *et al.*, 2016; BAGHDADI *et al.*, 2016). O aumento do uso de dispositivos de implantes médicos e alta resistência do biofilme ao tratamento antimicrobiano, são fatores importantes associados às infecções fúngicas relacionadas ao biomaterial (MAGALHÃES *et al.*, 2015).

Entre os dispositivos susceptíveis à contaminação por leveduras de *Candida albicans* e, subsequente desenvolvimento de biofilme está o cateter venoso central (CVC), comumente feito de poliuretano (PU), polidimetilsiloxano (PDMS), ou cloreto de polivinil (PVC) (MAGALHÃES *et al.*, 2015).

Os materiais de PU podem ser considerados um dos mais biocompatíveis conhecidos na atualidade (BAGHDADI *et al.*, 2016). O Silicone ou polidimetilsiloxano (PDMS) apresenta propriedades que limitam a adesão de microrganismos (GAGE *et al.*, 2002) e por fim, o PVC é o segundo polímero mais consumido no mundo, porque se adaptam a diversas aplicações devido aos seus benefícios como: durabilidade, resistência à grande parte dos reagentes químicos, leveza, isolamento térmico, elétrico e acústico, e por sua impermeabilidade a gases e líquidos (LUCCHESI; MORAES; EGUCHI, 2012).

Apesar de apresentarem características biocompatíveis, os dispositivos médicos estão sujeitos à contaminação microbiana e formação de biofilme, devido ao uso frequente em ambientes de alta umidade como o corpo humano. Além disso, os métodos tradicionais de tratamentos de materiais contaminados, tais como limpeza mecânica e uso de produtos químicos antimicrobianos, podem ter baixa eficácia e

serem prejudiciais ao ambiente (STORTI, 2006). Portanto, se faz necessário, a busca de novas tecnologias, para modificação de superfícies, que promovam a inibição da adesão de microrganismos nestes dispositivos, bem como em caso de contaminação, possam eliminá-los (PROFIJT *et al.*, 2011).

As tecnologias que geram espécies oxidantes sem adição de produtos químicos podem oferecer uma alternativa promissora a esses métodos antimicrobianos. As superfícies revestidas com certos materiais, são capazes de gerar espécies reativas de oxigênio (ERO) na interface biofilme-substrato. Esse processo, denominado fotocatalise, utiliza materiais semicondutores e luz ultravioleta (UV), apresentando capacidade de degradar compostos orgânicos, incluindo os microrganismos (GAGE *et al.*, 2002).

Entre os materiais de desinfecção fotocatalítica, o dióxido de titânio (TiO_2), utilizado para recobrimento de superfícies, mostrou resultados significativos na inativação de grupos de bactérias e fungos na forma planctônica (WOLFRUM *et al.*, 2002; SUNADA; WATANABE; HASHIMOTO, 2003). Embora a fase anatase do TiO_2 demonstre maior atividade fotocatalítica em comparação com as fases amorfa e rutilo, o TiO_2 amorfo é preferível, por ser facilmente sintetizado em substratos com sensibilidade térmica como os polímeros (HUANG *et al.*, 2012; KAUR; SINGH, 2012).

Para aumentar a atividade fotocatalítica do TiO_2 amorfo, abordagens incluindo carregamento de metal nobre, íons metálicos e dopagem de ânions, sensibilização por corantes e acoplamento de compostos semicondutores, têm sido desenvolvidas (ZALESKA, 2008; GUPTA; TRIPATHI, 2011). A preparação de óxidos de titânio amorfos hidro-oxigenados ($\alpha\text{-TiO}_x\text{: OH}$) preparados por deposição de vapor químico reforçada por plasma remoto apresentou fotoativação por UV, como fotocondutividade e superhidrofilicidade (NAKAMURA *et al.*, 2001; DOZZI; SELLI, 2013). Mingce *et al.* (2007) estudaram a resposta fotocatalítica do TiO_2 dopado com cloro e verificaram que a presença de cloro melhorou a absorção da luz pelo TiO_2 .

Scuderi *et al.* (2016) caracterizaram a atividade fotocatalítica e antibacteriana dos filmes de TiO_2 crescidos pela nano tecnologia de deposição por camada atômica (ALD) e demonstraram que o TiO_2 amorfo crescido sobre silício teve uma resposta fotocatalítica após 25 minutos de tratamento com o azul de metileno e UV. O desenvolvimento de filmes ultrafinos (<100nm) de TiO_2 pela nano tecnologia ALD, progrediu consideravelmente, com aplicações na microeletrônica e biomedicina. No entanto, não encontramos estudos de filmes de TiO_2 crescidos por ALD sobre

substratos poliméricos destinados a aplicações biomédicas (GUO *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2009).

Com essa motivação, este trabalho procurou investigar o crescimento e as propriedades de filmes ultrafinos de TiO₂ por ALD sobre substratos de PU e PDMS, avaliando subseqüentemente seu efeito no crescimento e processo de inativação do biofilme de *Candida albicans*.

Para avaliar as propriedades fungistática e antifúngica dos filmes finos de TiO₂, leveduras de cepas padrão de *Candida albicans* foram cultivadas em substratos não revestidos e revestidos de TiO₂ e, posteriormente, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contabilizadas. Para analisar o efeito do recobrimento de TiO₂, foi testada a ação antifúngica por meio da irradiação por luz UV (365 nm). A investigação aqui descrita, foi conduzida utilizando análise Termogravimétrica (TGA), Espectroscopia Raman, Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopia de Retroespalhamento Rutherford (RBS), Ângulo de Contato e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Com base nos resultados obtidos a partir dessas técnicas, foi possível compreender a estrutura do filme, as ligações químicas, o crescimento por ciclo (GPC) do filme fino nos diferentes substratos, a composição elementar filme/polímero, o ângulo de contato e o trabalho de adesão microrganismo/morfologia superficial do polímero. Por fim, foram discutidas as correlações entre os ensaios microbiológicos e as propriedades fundamentais dos filmes, para melhor compreender o processo de crescimento e inativação das leveduras de *Candida albicans*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo será apresentado o levantamento bibliográfico realizado sobre os principais assuntos discutidos neste trabalho: as infecções fúngicas relacionadas a *Candida albicans* em dispositivos médicos; novas estratégias de combate à contaminação por microrganismos e formação de biofilme, fotocatalise, recobrimento de filme fino de TiO₂ pela tecnologia de deposição por camada atômica a baixas temperaturas e suas propriedades fotocatalíticas e antifúngicas, que sustentam o embasamento para os pontos de vista defendidos.

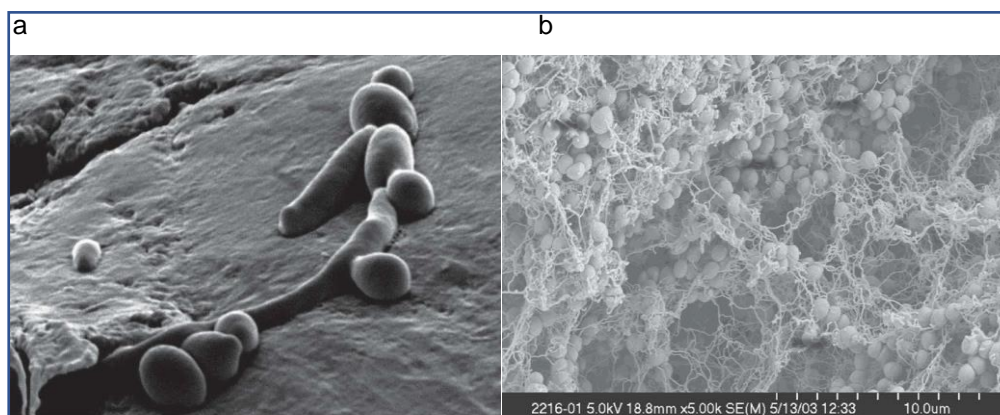
2.1 Infecções fúngicas relacionadas a *Candida albicans* em dispositivos médicos

Dentre o gênero *Candida*, a espécie *Candida albicans* é a mais prevalente na microbiota humana e a mais significativa das espécies de fungos na forma de biofilmes que causam impacto na morbimortalidade, coloniza de forma assintomática muitas áreas do corpo, particularmente os tratos gastrointestinal e geniturinário de indivíduos saudáveis (DEL POZO, 2018; LOHSE *et al.*, 2018).

Candida albicans estão associadas a quase 80% de todas as infecções por fungos nosocomiais. Como patógeno oportunista, representam 15% de todos os casos de sepse adquirida no hospital, são a quarta causa mais frequente de infecções da corrente sanguínea em contextos clínicos, com desfechos graves e fatais. São as espécies fúngicas predominantes de infecções por dispositivos médicos: cateteres venosos urinários e centrais, marcapassos, válvulas cardíacas mecânicas, próteses articulares, lentes de contato e dentaduras (NOBILE; JOHNSON, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2015; CHIN *et al.*, 2016; GIRELLI; BENEDETTI, 2018).

A grande diferença para alto potencial de virulência, patogenicidade e resistência aos antimicrobianos dos fungos em relação às bactérias se dá pelas suas características. Os fungos (Figura 1a) de estrutura mais complexa, pluricelular, são mais organizados por serem eucariontes, portanto, possuem núcleo cercado por membrana celular e contêm organelas, enquanto as bactérias (Figura 1b), são unicelulares, procariontes, não possuem núcleo, configurando-se em uma estrutura mais simples (FERNANDES *et al.*, 2016; FATHI *et al.*, 2016).

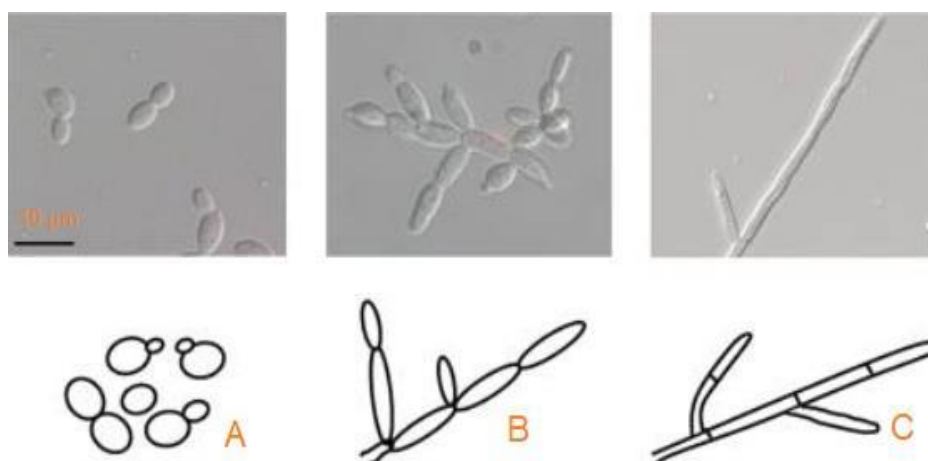
Figura 1 - (a) Infecção relacionada ao tubo biliar: imagem de microscopia eletrônica de varredura mostrando um biofilme de *Candida albicans* crescido na superfície de um stent biliar; (b) Imagem de microscopia eletrônica de varredura Biofilme de *Staphylococcus aureus* crescido na superfície de um cateter intravascular.



Fonte: Adaptação de Del Pozo (2018) a partir de DEL POZO, J. L. Biofilm-related disease. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 16, ed. 1, p. 51-65, jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29235402>. Acesso em: 18 out. 2019.

As espécies de *Candida* pertencem ao filo *Ascomycota*, classe *Hemiascomycetes* e ordem *Saccharomycetales*. O gênero *Candida* produz biofilmes altamente estruturados compostos por vários tipos de células. Na Figura 2, observe células redondas em forma de levedura que brotam; células pseudo-hifais ovais; e células hifais cilíndricas alongadas envoltas em uma matriz extracelular (PAPPAS *et al.*, 2009; NUCCI *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2012; RUHNKE *et al.*, 2012).

Figura 2 – Principais morfologias assumidas por espécies de *Candida* spp. (A) leveduras. (B) pseudohifas. (C) hifas verdadeiras.



Fonte: THOMPSON, D. S.; CARLISLE, P. L.; KADOSH, D. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. **Eukaryotic Cell**, v. 10, n. 9, p. 1173–1182, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3187052/>. Acesso em: 24 mar. 2018.

Para gerar hifas, as células que nascem mudam seu modo de crescimento para uma extensão apical contínua seguida de septação. As pseudo-hifas são criadas por brotação unipolar, com as células permanecendo ligadas à célula mãe. Tanto as pseudo-hifas quanto as verdadeiras hifas produzem cadeias de células. As células de levedura de *Candida albicans* mudam para o crescimento hifa quando fagocitadas ou expostas ao soro do hospedeiro, essa característica facilita a invasão dos tecidos do hospedeiro e escapa da destruição fagocitótica, dessa forma, essa morfologia hifal adquirida pelo fungo ajuda a explorar e se adaptar a determinados ambientes do hospedeiro e melhorar sua sobrevivência e infectividade (RAMAGE *et al.*, 2012).

A transição para a patogenicidade de espécies de *Candida*, principalmente de *Candida albicans*, ocorre geralmente devido à condição imunológica do hospedeiro, uso de antimicrobianos, quimioterapia e corticoides por tempo prolongado, imunossupressão em transplantados, doenças crônicas associadas (Diabetes Mellitus, Síndrome da imunodeficiência-HIV etc.), levando a um desequilíbrio da microbiota, que associado a importantes fatores de virulência, como a formação de biofilme e a produção de enzimas hidrolíticas, promove a disseminação de fungos para outros sítios e órgãos (DEL POZO, 2018; LOHSE *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2016).

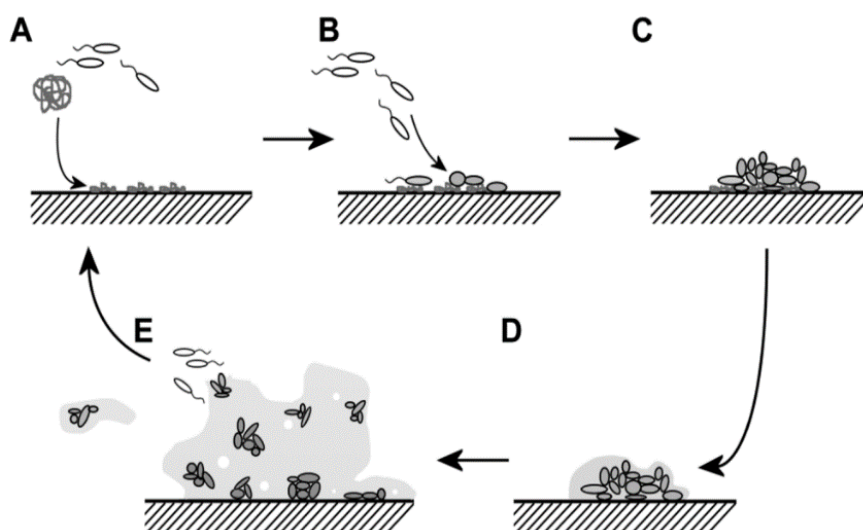
O biofilme é uma comunidade de células aderentes com propriedades distintas das células flutuantes (planctônicas), o qual possibilita às mesmas proteger-se da imunidade do hospedeiro, estresse do ambiente e esgotamento nutricional, constituindo um reservatório de infecção contínua, além de ser resistente aos tratamentos antimicrobianos de amplo espectro (NOBILE; JOHNSON, 2015; TOUIL; BOUCHERIT-OTMANI; BOUCHERIT, 2018).

O biofilme microbiano se adere a uma superfície biótica ou abiótica como uma associação de células microbianas. Estas células, são envoltas por uma complexa matriz extracelular de substâncias poliméricas que confere a esta comunidade maior resistência aos agentes antimicrobianos quando comparadas aos microrganismos livres. Na forma de biofilmes, os microrganismos são capazes de estabelecer colônias sobre tipos de materiais distintos e em condições extremas de nutrição, por meio do mecanismo de comunicação intercelular através de moléculas sinalizadoras, o “*quórum sensing*”, responsável pela dispersão constante e monitoramento de moléculas similares a hormônios auto indutores. O *Quorum sensing* é um método de comunicação que permite que os microrganismos detectem a densidade celular e a

composição da comunidade microbiana e respondam como um grupo. (LUCCHESI; MORAES; EGUCHI, 2012).

A formação de biofilme por *Candida* é um processo multifatorial e sequencial que envolve basicamente as seguintes etapas conforme a representação esquemática da figura 3: (A) As proteínas do paciente adsorvem rapidamente na superfície de um dispositivo implantado e formam um bom substrato para adesão de fungos; (B) Os fungos sésseis recrutam fungos adicionais do ambiente direto e também proliferam na superfície; (C) Os fungos aderidos alteram os padrões de expressão gênica e começam a produzir a substância polimérica extracelular, o principal componente do biofilme; (D) O biofilme cresce lentamente e formam-se microcolônias de fungos dentro do biofilme; (E) Finalmente, pequenas partes do biofilme podem se romper e os fungos dispersam do biofilme e podem invadir superfícies novas e limpas em locais distantes (KNETSCH; KOOLE, 2011).

Figura 3 – Representação esquemática da formação de biofilme.

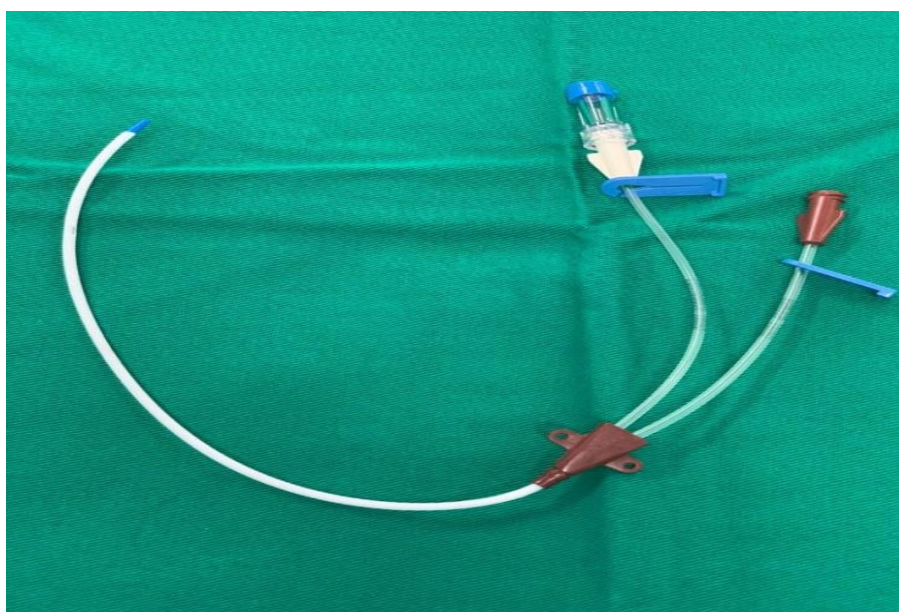


Fonte: KNETSCH, M. L. W.; KOOLE, L. H. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. **Polymers**, v.3. p. 340-366, 2011. Disponível em: <https://www.mendeley.com/catalogue/e8569452-ccfe-3575-9e2a-1e65f37f28be/>. Acesso em: 24 mar. 2019.

Em média, 70% de todas as infecções (fúngicas e não fúngicas) relacionadas à assistência estão vinculadas à presença de biofilmes em dispositivos médicos. A utilização de dispositivos médicos, são imprescindíveis para o tratamento dos pacientes, seja como próteses ou órteses, tubos para manter via aérea apta para

ventilação mecânica, cateteres para administração de fármacos por vias venosas, gástricas, monitorizações de sinais vitais, medições de fluidos corpóreos e exames diagnósticos. Todo indivíduo que precisa de tratamentos de saúde, está susceptível a infecções devido ao uso prolongado desses dispositivos. A produção de biofilme em cateter venoso central (CVC), representado na Figura 4, contribui significativamente para o aumento da morbimortalidade, demanda terapêutica, permanência hospitalar, aumento de custos e redução da qualidade de vida (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

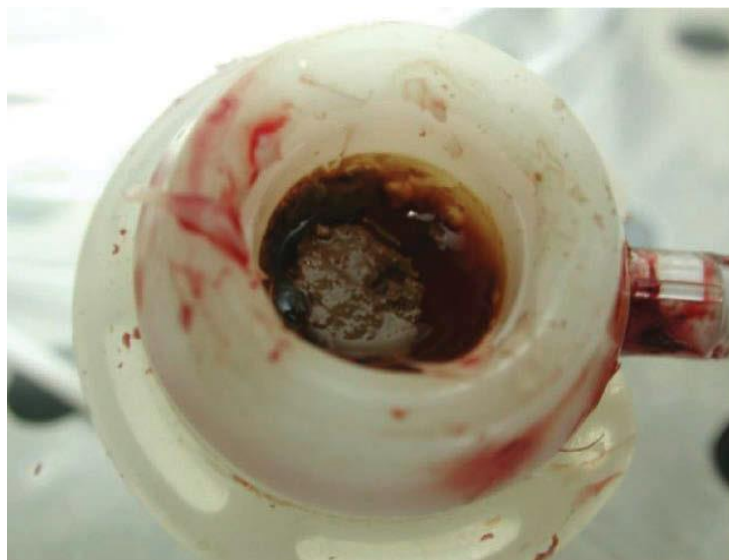
Figura 4 – Imagem de cateter venoso central de duas vias.



Fonte: Autoria própria.

A doença do biofilme pode ser dividida em três tipos principais: doença de biofilme relacionada ao dispositivo; biofilme crônico sem dispositivo; e mau funcionamento do dispositivo relacionado ao biofilme. As manifestações clínicas do mau funcionamento do dispositivo relacionado ao biofilme podem ser devastadoras, tendo como conduta indicada a remoção do dispositivo médico, sujeitando o paciente à reinserção de outro dispositivo em outro sítio de acesso invasivo ao organismo, o que implica a somatização de custos e riscos, por ampliar a administração de altas doses de antifúngicos, que por sua vez, causa danos aos rins e fígado (DELPOZO, 2018; NOBILE; JOHNSON, 2015). Na figura 5, a representação de um cateter totalmente obstruído pelas consequências da contaminação por biofilme.

Figura 5 – Obstrução da porta venosa do cateter totalmente implantável devido à formação de biofilme.



Fonte: DEL POZO, J. L. Biofilm-related disease. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 16, ed. 1, p. 51-65, jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29235402>. Acesso em: 18 out. 2019.

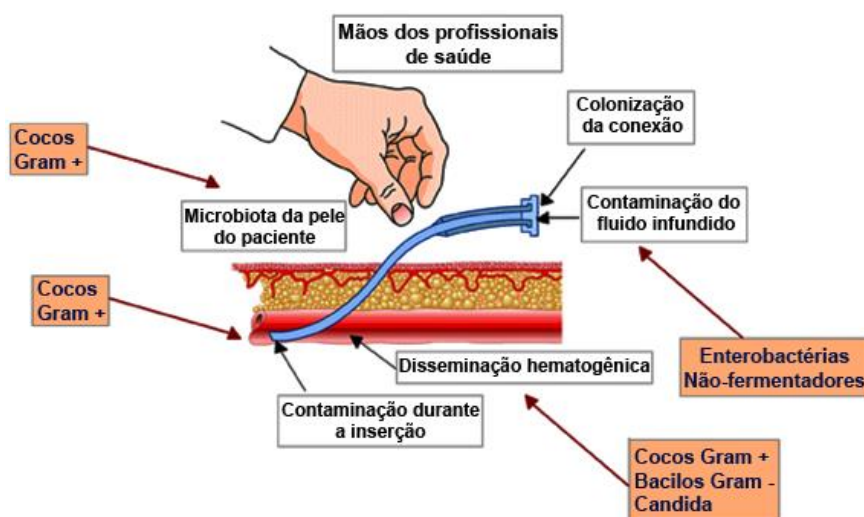
O tratamento pós-infecção pelo biofilme é muito difícil em razão de sua natureza viscosa que impede a penetração dos antimicrobianos. A alta resistência aos antimicrobianos é devido à taxa de crescimento lento da espécie, alterações fisiológicas ou alterações do gene, idade do biofilme, produção de substância polimérica extracelular, presença dos biomateriais, disfunção local de neutrófilos, transferência horizontal do gene aumentando as cepas resistentes e perfil de virulência alterado (AHMADI *et al.*, 2013; DEL POZO, 2018).

A tolerância aos antimicrobianos pode resultar da inibição da morte celular natural em uma população de células, conhecidas como células dormentes ou persistentes. Essa população apresenta reduzida taxa metabólica e comumente encontra-se na base da estrutura dos biofilmes, onde há limitada oferta de oxigênio. O baixo metabolismo dessas células persistentes garante a sua resistência ao tratamento com antimicrobianos, visto que os antimicrobianos geralmente agem na fase de crescimento, como síntese proteica, síntese de ácidos nucleicos e de parede celular (TRENTIN; GIORDANI; MACEDO, 2013).

A infecção provocada pelos dispositivos implantados podem ter várias fontes, dentre elas: a superfície do dispositivo contaminado, as mãos da equipe de saúde durante a implantação e posteriores manuseios, a própria pele do paciente, locais

distantes de infecção no paciente, desinfetantes contaminados, contato com outros pacientes ou família (KNETSCH; KOOLE, 2011). Esses modos de contaminação podem ser observados na Figura 6, e podem ser evitados com a rigorosa lavagem das mãos, porém não é garantia da limpeza por completo, o que necessita da busca de novas estratégias preventivas de infecções causadas por adesão de patógenos e microrganismos (BRASIL, 2017).

Figura 6 – Formas de contaminação por cateter venoso central.



Fonte: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/3507912/Caderno+4+-+Medidas+de+Preven%C3%A7%C3%A3o+de+Infec%C3%A7%C3%A3o+Relacionada+%C3%A0+Assist%C3%A2ncia+%C3%A0+Sa%C3%BAde/a3f23dfb-2c54-4e64-881c-fccf9220c373>. Acesso em: 29 set. 2019.

O crescente uso de biomateriais implantáveis vem elevando a expectativa de vida humana, devido ao reestabelecimento de inúmeras funções vitais (BUSSCHER *et al.*, 2012). No entanto, apesar dos benefícios, complicações infecciosas de difícil tratamento são frequentemente observadas. Geralmente essas infecções estão associadas à formação de biofilmes, os quais são altamente resistentes aos agentes antimicrobianos convencionais e normalmente estão associados à reincidência da infecção (DEL POZO, 2018).

Os dispositivos médicos implantáveis, como o cateter venoso central, são biomateriais fabricados geralmente a partir de poliuretano (PU), polidimetilsiloxano (PDMS). Os poliuretanos (PU) são polímeros bastante versáteis, possuem alta

resistência à abrasão, ampla faixa de densidade, flexibilidade e resistência química a alguns produtos. São produzidos pela poliadição, de um poliisocianato e um polioliol ou outros reagentes, mas também podem ser resultantes de policondensação (reação em etapa) (WIEBECK; HARADA, 2005). A preparação de poliuretanos em várias formas permitiu seu amplo uso em tais indústrias como construção, engenharia, automotiva, têxtil e médica. Na medicina, suas propriedades biocompatíveis, bioestáticas e biodegradáveis são muito desejáveis (BRZESKA, 2015).

O poliuretano é o biomaterial de primeira escolha para a fabricação de cateteres venosos de longa permanência, em função de ter paredes mais finas, permitindo maior diâmetro de luz interna em relação a um cateter de mesmo diâmetro externo feito em silicone, o que resulta num menor risco de obstrução (GALLIENI; PITTIRUTI; BIFFI, 2008).

A superfície lisa do poliuretano o torna mais biocompatível, minimizando a formação de biofilme e, conseqüentemente, de infecções na corrente sanguínea relacionada ao seu uso, além disso, permite a mobilidade do paciente quando inserido em articulações. Essa biocompatibilidade se deve às suas principais características: dureza, resistência química, baixa trombogenicidade, flexibilidade e hemocompatibilidade devido ao equilíbrio hidrofílico-hidrofóbico de sua superfície, dentre as vantagens, possui menor risco para flebite e infiltração (HEILMAN, 2015; BRZESKA, 2015).

O polidimetilsiloxano (PDMS), também chamado de polisiloxanos, é o silicone utilizado na prática médica desde a década de 60 e, em pouco tempo, se popularizou pela sua elevada biocompatibilidade, baixa trombogenicidade tornando-se o principal material utilizado em cateteres e dispositivos intravasculares (SASSAKI NETO, 2014). São misturas de polímeros inorgânicos e orgânicos com a fórmula química $[R_2SiO]_n$, onde R representa grupos orgânicos como metil, etil e fenil, constituídos de uma matriz siloxano (Si-O), e grupos orgânicos laterais que se ligam aos átomos de silício (LARENA-AVELLANDEDA *et al.*, 2008). Por ser inerte, apresenta menor reatividade química e limita aderência microbológica, no entanto sua alta molhabilidade e seu uso em ambiente úmido o deixa suscetível a colonizações (STORTI, 2006).

Polímeros, como o PU e o PDMS, são uma classe de materiais que encontraram aplicações difundidas devido à sua facilidade e processabilidade de custos e flexibilidade mecânica. Sempre, em comparação com os seus homólogos inorgânicos, em alguns casos, os polímeros geralmente têm eletricidade,

propriedades ópticas, catalíticas e mecânicas que não atendem ao desempenho necessários para suas aplicações (SUBRAMANIAN; TIWALE; NAM, 2019).

Independentemente da sofisticação do implante, todos os dispositivos médicos estão suscetíveis ao risco de contaminação microbiana e infecção (TRETER; MACEDO, 2011; BUSSCHER *et al.*, 2012) devido, principalmente, ao déficit imunológico local na interface implante-hospedeiro (ROCHFORD; RICHARDS; MORIARTY, 2012). Muitos estudos têm sido realizados no intuito de modificar a superfície desses polímeros para melhorar sua condição hidrofílica, promover a adsorção dos precursores no processo de recobrimento de filmes finos de óxidos metálicos, e serem sensíveis às reações de fotocatalise, reduzindo assim, a adesão microbiana (FUARD *et al.*, 2008; SPAGNOLA; GONG; PARSONS, 2010).

2.2 Novas estratégias de combate à contaminação por microrganismos e formação de biofilme

As estratégias para o combate de biofilmes podem, basicamente, serem divididas em dois segmentos, sendo um a inibição da formação de biofilmes, por meio do bloqueio da adesão celular a uma superfície ou pelo rompimento da comunicação celular (*Quorum sensing*), e o outro pela erradicação de biofilmes já formados (TRENTIN; GIORDANI; MACEDO, 2013).

Tradicionalmente, o bloqueio da adesão celular em superfícies abióticas se faz pelo uso profilático ou terapêutico de antimicrobianos e podem reduzir a incidência de infecções associadas a biofilmes em dispositivos implantáveis. A penetração do biocida no biofilme é lenta não atingindo a parte do biofilme que está em contato com o substrato permanecendo intacto e resistente a esses tratamentos. A substituição destes dispositivos, é outra alternativa utilizada, no entanto, essa prática acarreta onerosos custos tanto ao paciente quanto ao sistema de saúde (GAGE *et al.*, 2002; LYNCH; ROBERTSON, 2008; KNETSCH; KOOLE, 2011).

Os estudos de compostos bioativos, envolvem a fotoquímica e a fotocatalise o que despertou bastante interesse após pesquisas sobre a fotólise da molécula de água na presença de TiO₂ e luz ultravioleta (UV) realizada pelos pesquisadores Fujishima e Honda (1972). A partir deste trabalho pioneiro, as evoluções do desenvolvimento dos estudos relacionados aos processos fotocatalíticos aumentaram ano após ano (NAKATA; FUJISHIMA, 2012).

A modificação de superfícies, de maneira geral, permite: modificar a superfície externa de um material para dificultar a adesão microbiana e/ou facilitar a biocompatibilidade material-tecido, mantendo inalteradas as propriedades mecânicas, o volume e as funcionalidades desejáveis do material; e introduzir sítios na superfície do material para a imobilização de moléculas ativas (BAZAKA; JACOB; CRAWFORD, 2012; GODDARD; HOTCHKISS, 2007).

2.2.1 Fotocatálise

A fotocatalise tem emergido como um processo de oxidação avançada (POA), que utiliza materiais semicondutores e luz ultravioleta (UV) para gerar EROS, logo, as superfícies revestidas com certos materiais (fotocatalizadores) são capazes de gerar espécies reativas de oxigênio (EROS) na interface biofilme substrato que pode subsequentemente degradar células. É bastante utilizado para a descontaminação da água juntamente com a remoção de microrganismos como uma alternativa ao tratamento convencional de água potável, bem como para a produção de água ultrapura para aplicações farmacêuticas, compostos corantes, degradação de poluentes do ar, na obtenção de superfícies auto-limpantes na esterilização, e até mesmo na terapia do câncer devido à geração de espécies oxidantes fortes (GAGE *et al.*, 2002; FELTRIN *et al.*, 2013).

Processos de oxidação avançada (POA) consistem em processos de fase aquosa com base na geração de espécies reativas de oxigênio (EROS), como a hidroxila, responsáveis pela degradação de compostos orgânicos. São exemplos desses processos, o ozônio, ozônio + luz ultravioleta (UV), ozônio + peróxido de oxigênio (H_2O_2), reagentes Fenton (solução de peróxido de hidrogênio e um catalisador de ferro) e a fotocatalise (GAGE *et al.*, 2002; LEE *et al.*, 2009; KNETSCH; KOOLE, 2011).

O oxigênio é uma substância facilmente redutível e se estiver presente, a redução ocorre antes da formação dos radicais hidroxilas. A redução de oxigênio resulta no superóxido, cujos ânions contribuem para a reação oxidativa e formam o peróxido de hidrogênio. Os radicais hidroxila (OH), buracos (h^+), íons superóxidos e radicais hidroperoxil atuam simultaneamente para oxidar uma grande variedade de poluentes orgânicos, incluindo compostos orgânicos voláteis e bioaerossóis (FELTRIN *et al.*, 2013).

A luz ultravioleta (UV), é uma luz com comprimentos de onda entre 100 e 400nm, sendo mais utilizado em fotocatalise no comprimento de onda entre 320nm a 400nm. Quando um semicondutor (por exemplo, TiO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CdS , e ZnS) absorve a luz UV com energia maior que sua banda proibida, os elétrons são promovidos da banda de valência para a banda de condução, deixando simultaneamente buracos carregados positivamente (h^+) correspondentes ao número de elétrons na faixa de valência, em seguida ocorre a migração para a superfície do semicondutor para participar de reações de oxidação e redução, o que danifica as moléculas do agente contaminante (GAGE *et al.*, 2002; FELTRIN *et al.*, 2013).

Quanto ao fornecimento de radiação, cada semicondutor tem uma energia mínima necessária para que o elétron seja promovido da banda de condução para a banda de valência (E_{bg}) associada a um comprimento de onda. E_{bg} é a energia de banda proibida (eletron-volt: eV). A ligação dos átomos é feita pelos elétrons localizados na órbita mais externa do átomo (elétrons de valência). Entre as bandas de elétrons, há uma com o maior nível de energia (órbita do elétron mais distante do núcleo) que é a banda de valência; a banda externa é referida como a banda de condução. A energia entre a banda de valência e a banda de condução, (chamada de buraco), é como um obstáculo que os elétrons devem saltar para se tornarem livres. Banda proibida é a quantidade de energia necessária para saltar da banda de valência para a banda de condução. Elétrons que saltam na banda de condução (os elétrons de condução), é que podem mover-se livremente (HASHIMOTO; IRIE; FUJISHIMA, 2005; FELTRIN *et al.*, 2013).

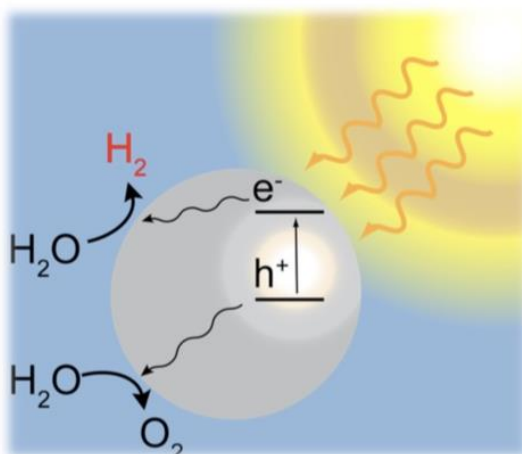
A superfície de um fotocatalisador contém água absorvida. Quando essa água é oxidada pelos buracos positivos, são formados os radicais hidroxila (OH). O buraco h^+ reage com a água ou com o radical OH^- para formar o radical hidroxila e H^+ . Se o oxigênio está presente quando este processo ocorre, os radicais intermediários dos compostos orgânicos podem sofrer reações em cadeia e consumir o radical oxigênio. Nesse caso, a matéria orgânica eventualmente se decompõe, tornando-se dióxido de carbono e água, que são os principais produtos finais, juntamente com NO_x e HCl para compostos orgânicos contendo nitrogênio e cloro (FELTRIN, *et al.*, 2013).

Além dos efeitos causados pela fotocatalise, a radiação por luz UV (com comprimento de onda 320 a 400 nm na escala eletromagnética) por si só pode danificar proteínas e membranas celulares, bem como danificar o DNA da célula produzindo compostos reativos de oxigênio, como H_2O_2 e O_2 . A fotocatalise é uma

tecnologia atraente porque não requer a adição de agentes oxidantes e os subprodutos da reação não são tóxicos. Além disso, o processo pode operar à temperatura ambiente usando a luz solar natural como fonte de luz UV (GAGE *et al.*, 2002).

Na Figura 7 está a representação esquemática da decomposição fotocatalítica típica de moléculas de água onde o hidrogênio é produzido através de um processo de redução na banda de condução assistida por um gerador fotoelétron e oxigênio são produzidos por meio de um processo de oxidação assistido por um orifício fotoinduzido na faixa de valência do fotocatalisador.

Figura 7: Representação esquemática do processo de fotocatalise.

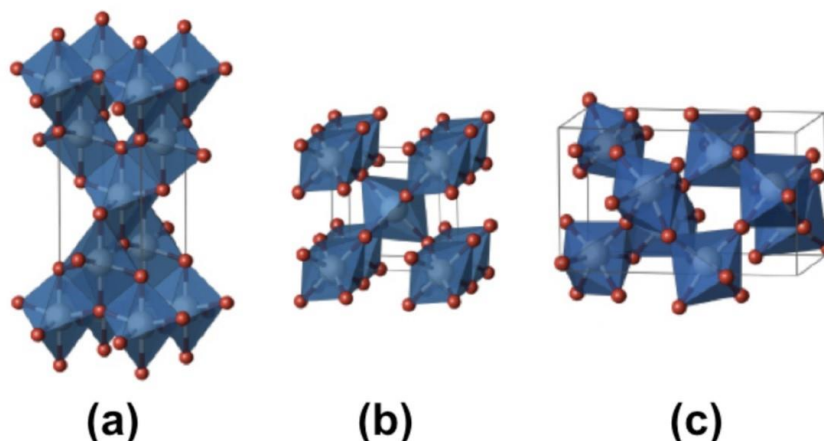


Fonte: BERARDO, E. **Modelling the Excited State Properties of TiO₂ Nanoparticles**. 2015. Tese (Doutorado em Física). UCL (University College London). Londres, 2015. Disponível em: <https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/1470301/>. Acesso em: jan.2017.

2.2.2 Dióxido de Titânio (TiO₂)

O TiO₂ pode existir como uma camada amorfa ou numa das três fases cristalinas: a anatase (tetragonal), o rutilo (tetragonal) e a brooquita (ortorrômbica), ilustrados na Figura 8 a, b e c, respectivamente. Enquanto rutilo é a fase estável, tanto anatase quanto brooquita são metaestáveis. No entanto, na forma de filme fino, apenas as estruturas cristalinas anatase e rutilo são facilmente sintetizadas, por serem cadeias octaédricas de TiO₆ interconectadas em diferentes configurações e propriedades físico-químicas (PESSOA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2020).

Figura 8 - Representação para o TiO_2 nas fases anatase (a), rutilo (b) e brooquita (c) onde as esferas azuis representam os átomos de Titânio e as esferas vermelhas os átomos de Oxigênio.



Fonte: Adaptação de LANDMANN (2012) a partir de LANDMANN, M., RAULS, E., SCHMIDT, W. The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite TiO_2 . **Journal of physics: condensed matter**, v. 24, n.19, p. 195-503, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22517072/>. Acesso em: dez 2018.

Comercialmente o dióxido de titânio é produzido por dois processos: sulfatação e cloretação. O processo de sulfato é uma operação industrial complexa de múltiplos estágios, produz um pigmento inferior, além de gerar grande quantidade de rejeitos na forma de sulfato de ferro ao meio ambiente. Assim, o processo de cloretação é preferível, onde o rutilo mineral reage com cloro gasoso para formar o tetracloreto de titânio líquido (TiCl_4). O dióxido de titânio (TiO_2) também pode ser sintetizado em laboratório. A técnica mais utilizada é o sol-gel a partir de um precursor como tetraisopropóxido de titânio ou tetracloreto de titânio (TiCl_4), sendo que o sintetizado é mais homogêneo e pode apresentar uma área superficial maior que as referências comerciais e, conseqüentemente, maior atividade fotocatalítica (FELTRIN *et al.*, 2013).

A reação de fotocatalise com o TiO_2 na fase anatase, acontece a um comprimento de onda de 388 nm (banda proibida de 3,2 eV), contudo, a taxa de reação fotocatalítica depende da absorção da radiação do fotocatalisador (FELTRIN *et al.*, 2013). O TiO_2 absorve a luz e quando esta atinge um nível de energia maior, os elétrons pulam para a banda de condução e criam buracos positivos na banda de valência, que é maior que o poder redutor dos elétrons na banda de condução, daí o seu forte poder oxidativo. Os parâmetros de desempenho do TiO_2 como fotocatalisador mesmo quando é fotoexcitado se mantêm estável, são eles: fase cristalina, área superficial específica, tamanho de partícula/morfologia e condições de tratamento térmico. Sendo a fase anatase bem melhor devido a área superficial

elevada, uma alta densidade de sítios ativos de adsorção, além de uma recombinação mais lenta e maior mobilidade dos elétrons (WANG *et al.*, 2009).

A observação pioneira da decomposição fotocatalítica da água no eletrodo de TiO_2 na década de 1970 despertou um enorme interesse no desenvolvimento de aplicações de TiO_2 em conversão de energia solar, armazenamento de energia e biorremediação fotoassistida, que representam componentes essenciais para o conceito de fontes de energia renováveis e de ambiente sustentável. Essas aplicações também aproveitam as vantagens do TiO_2 por ser um material de baixo custo com uma taxa de fotocorrosão extremamente baixa. Além disso, graças à biocompatibilidade inerente, baixa toxicidade e alta estabilidade química do TiO_2 , ocorreu o surgimento de aplicações biomédicas do TiO_2 , incluindo terapia fotodinâmica para tratamento de câncer, sistemas de administração de medicamentos, geração de imagens de células, biossensores e engenharia genética (DVORAK *et al.*, 2019).

A ação fotocatalítica do dióxido de titânio ainda pode ser aplicada em diversos campos como purificação do ar, da água, como fungicida, bactericida e viricida, degradação de corantes, preparação de superfícies que se mantêm limpas ao longo do tempo (autolimpantes), como agente esterilizador e na proteção anticorrosiva, devido à fotogeração de elétrons sob radiação UV, que resulta em uma proteção catódica adicional (LEE *et al.*, 2009).

A fase anatase exibe alta atividade fotocatalítica que pode ser usado em uma variedade de aplicações como células solares sensibilizadas por corantes; degradação fotoquímica de produtos químicos tóxicos, em baterias de lítio, separação de água e fotocatalisadores de alta eficiência. Sendo adquirida a altas temperaturas, a fase rutilica é interessante para sistemas ópticos e microeletrônicos. Para a maioria dos processos de deposição de filmes finos (como por exemplo: sputtering de magnetron, deposição química a vapor – CVD, vapor químico aprimorado por deposição plasma – PECVD, deposição por camada atômica), a fase rutilica em filmes finos de TiO_2 , só é possível a temperaturas superiores a 800°C , o que inviabiliza a sua aplicação para recobrimento dos substratos termossensíveis, como o PU e o PDMS (PESSOA *et al.*, 2015).

Embora a estrutura química da fase anatase ou rutilo pareça ser mais favorável para a fotocatalise, ela ainda é ineficiente em sua fase pura. Dessa forma, o TiO_2 amorfo aparece como uma alternativa às estruturas cristalinas do dióxido de

titânio, pois tem uma área de superfície maior que leva a uma melhor adsorção. Também é mais amplamente disponível na natureza e pode ser preparado à temperatura ambiente. Além disso, é mais fácil processar em diferentes formas e pode permitir uma gama muito maior de dopantes (HUANG *et al.*, 2012; KAUR *et al.*, 2012).

A estrutura eletrônica do TiO₂ amorfo é semelhante à do TiO₂ cristalino, mas com um buraco maior e o intervalo da banda de energia pode ser controlado com dopantes. Os dopantes não apenas alteram a estrutura elétrica do TiO₂ (modificando o buraco) e aumentam a eficiência fotocatalítica, mas também podem levar a alterações na estrutura da fase do TiO₂ (amorfização), o que, diminuiria a eficiência fotocatalítica porque uma estrutura amorfa possui um número maior de centros de recombinação. Apesar disso, o TiO₂ amorfo tem suas vantagens, como o processo simples de sua preparação e necessidade de menor quantidade de substrato, e pode ser facilmente sintetizado em substratos de sensibilidade térmica como polímeros (HUANG *et al.*, 2011; KAVALIUNAS *et al.*, 2020).

Análise de propriedades eletrônicas sugerem que o TiO₂ amorfo pode ser um produto mais barato, mais abundante, mas com um pouco menos de poder fotocatalítico em comparação ao TiO₂ cristalino (KAUR; SINGH 2012). A dopagem com halogenetos e outros elementos já foi comprovada como uma estratégia eficiente de engenharia, a fim de reduzir a folga da banda e maximizar a atividade fotocatalítica. TiO₂ dopado com cloro tem forte absorção à luz visível, o cloro aumenta o espectro de absorção pois reduz o buraco da banda do TiO₂, e ainda reduz as temperaturas de transformação de fase do TiO₂ de amorfo para anatase e de anatase para rutilo, ou seja, o cloro melhora a absorção da luz pelo TiO₂ amorfo e assim, favorece sua atividade fotocatalítica (MINGCE *et al.*, 2007).

2.2.3 Deposição por camada atômica (ALD)

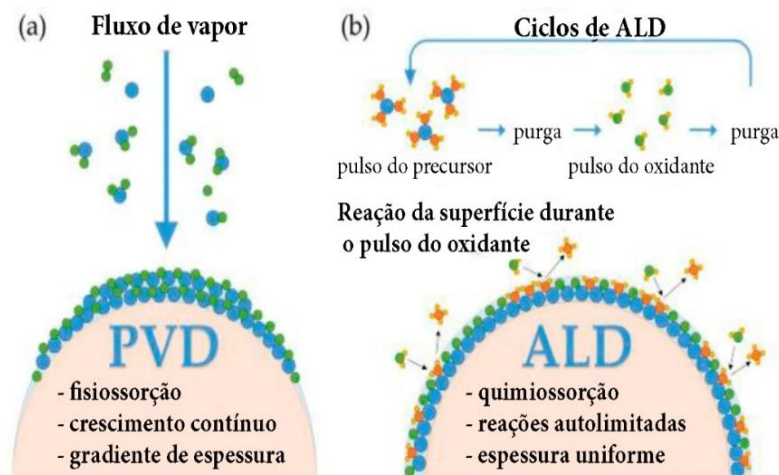
A deposição por camada atômica (ALD) é uma modificação especial do processo de deposição de vapor químico (CVD). Na deposição de filme fino por ALD, o precursor e o gás são fornecidos alternadamente na câmara contendo o substrato, a baixas temperaturas. Purgas de gás inerte são realizadas entre as exposições do vapor do precursor e do gás para reação. Diferentemente da CVD, onde precursor e gás são fornecidos simultaneamente (CHIAPPIM *et al.*, 2016).

As vantagens do uso ALD é que permite controle na síntese de filmes finos (camada a camada) a nível subnanômetro, pois o processo é baseado em duas meias-reações de sólidos gasosos. Esse controle da composição da camada a ser depositada é importante para a adaptação das propriedades químicas e físicas dos materiais (LEE; JANG; SUNG, 2003); realiza o processo de deposição em baixas temperaturas (<400°C), tornando-se assim, uma alternativa muito interessante para aplicações em materiais biomédicos termossensíveis (TAEWOOK *et al.*, 2011). Não requer catalisador e não há necessidade de solventes, confere excelente uniformidade e capacidades em composições de ajuste fino e fases estruturais (PESSOA; FRAGA, 2019).

A técnica ALD é análoga à técnica de deposição de vapor químico (CVD), diferenciando-se pela deposição realizada em ciclos de pulsos alternados de precursores, sendo que entre um ciclo e outro, a câmara é lavada com gás inerte. Cada ciclo é uma sequência de duas reações superficiais autolimitadas entre as moléculas precursoras gasosas e a superfície do substrato. Graças ao uso de precursores altamente reativos, que reagem imediatamente com o substrato para formar uma monocamada e não permitir mais nenhuma reação, cada ciclo aumenta a espessura da camada por um valor de crescimento por ciclo (GPC) que pode variar de 0,01nm/ciclo a 0,2nm/ciclo, dependendo do reator, precursor, atividade e tamanho, parâmetros do processo e processo de nucleação na superfície do substrato (STASZUK, 2019).

Dessa maneira, o crescimento do filme não depende do fluxo de gás como acontece nas técnicas de deposição CVD e deposição física de vapor (PVD), outra diferença é que as camadas de crescimento do filme podem ser ajustadas com precisão a nível atômico variando o número de ciclos, conferindo a alta qualidade e uniformidade da área revestida por filmes ALD em substratos poliméricos. Cada ciclo para depositar uma monocamada é composto por quatro etapas e depende dos parâmetros do processo, como temperatura e período de pulso. Os processos ALD são realizados em temperaturas significativamente mais baixas que os processos CVD, permitindo assim o revestimento em substratos termossensíveis (CHIAPPIM *et al.*, 2016; PESSOA; FRAGA 2019, STASZUK 2019). Diferenças entre os processos CVD e ALD estão representadas na Figura 9, destacando o fluxo dos precursores nos dois processos e a forma de crescimento de filme por ciclo.

Figura 9 - Diferenças de processo CVD e ALD.



Fonte: Adaptação de Pfeiffer *et al.* (2017) a partir de PFEIFFER *et al.* Revestimentos antirreflexo para lentes de vidro fortemente curvadas por deposição de camada atômica. **Revestimentos**. v. 7, n. 8, p. 118, ago 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6412/7/8/118>. Acesso em: 12 fev. 2018.

Um ciclo de ALD consiste de quatro etapas: (1) fornecer o primeiro precursor para introduzir o primeiro reagente de superfície em uma câmara de reação; purgar o precursor que não reagiu da reação na câmara; (3) fornecer o segundo precursor (água) para introduzir o segundo reagente na câmara de reação e (4) purgando a câmara de reação novamente. O ciclo de crescimento deve ser repetido quantas vezes for necessário para atingir a espessura desejada do filme (PESSOA; FRAGA, 2019).

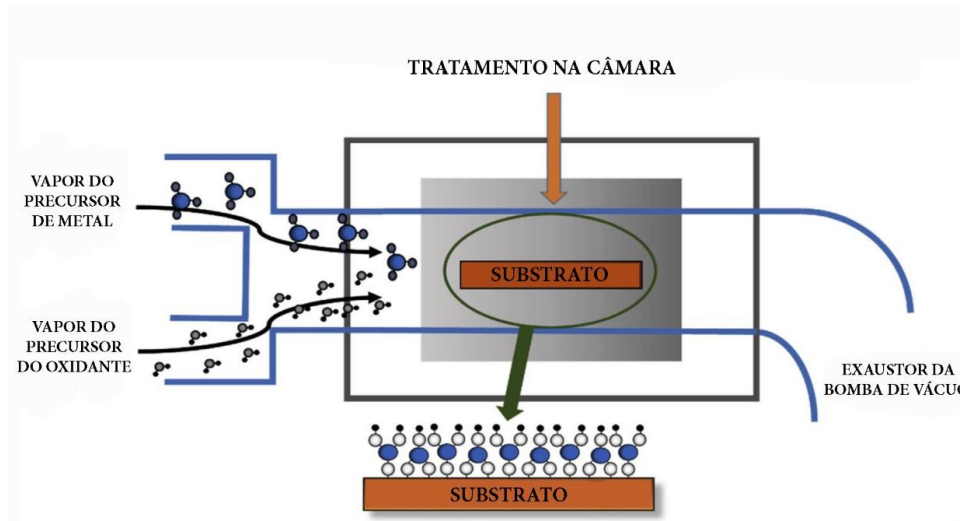
A adsorção autolimitada é o aspecto principal da ALD, tornando-a diferente de outras técnicas de deposição. Sob condições otimizadas (temperatura, pressão e tempo de exposição), as moléculas precursoras são adsorvidas por toda a superfície em apenas uma monocamada, não é permitida maior adsorção de moléculas precursoras nos locais de superfície já ocupados. Independentemente da geometria do substrato, os revestimentos preparados pelo ALD têm uniformidade em toda a superfície e sua espessura é controlável a nível atômico (DVORAK, 2019).

Nessa técnica, a estrutura do filme não tem necessariamente a mesma estrutura que o substrato onde o filme será crescido. Detalhando melhor, o processo de ALD possui passos autolimitados pela superfície, resultando em um aumento de espessura constante de filmes conformados em topografias tridimensionais complexas. Um precursor metálico é pulsado na câmara do processo, o qual reage quimicamente com a superfície do substrato. A purga tem a finalidade de remover

qualquer precursor ainda em fase gasosa, assim como qualquer reagente fisissorvido. O segundo pulso é do precursor não metálico. O gás não metálico é quimissorvido sobre a superfície e é submetido a uma reação de troca com a camada de metal que forma uma película fina molecular. Subprodutos gasosos também são produzidos e são removidos com a purga subsequente. Qualquer gás que não reagiu e reagentes não metálicos fisissorvidos também é removido da câmara durante a purga. Os filmes são depositados camada por camada, devido à quimissorção dos reagentes. (CHIAPPIN, 2016).

A deposição por camada atômica operando em modo térmico (ALD) possui uma câmara aquecida (que, dependendo do equipamento, opera entre 100 e 600°C), onde é colocado o substrato, possui uma geometria para inserção do fluxo de gases do processo de maneira cruzada (crossflow), passando por esse caminho os precursores metálicos, ligante e o gás inerte para purga, e esse sistema encontra-se ligado a uma bomba de vácuo, representado na Figura 10 (AARIK *et al.*, 2013).

Figura 10 - Esquema do reator ALD operando em modo térmico, com fluxo cruzado dos gases pulsados.

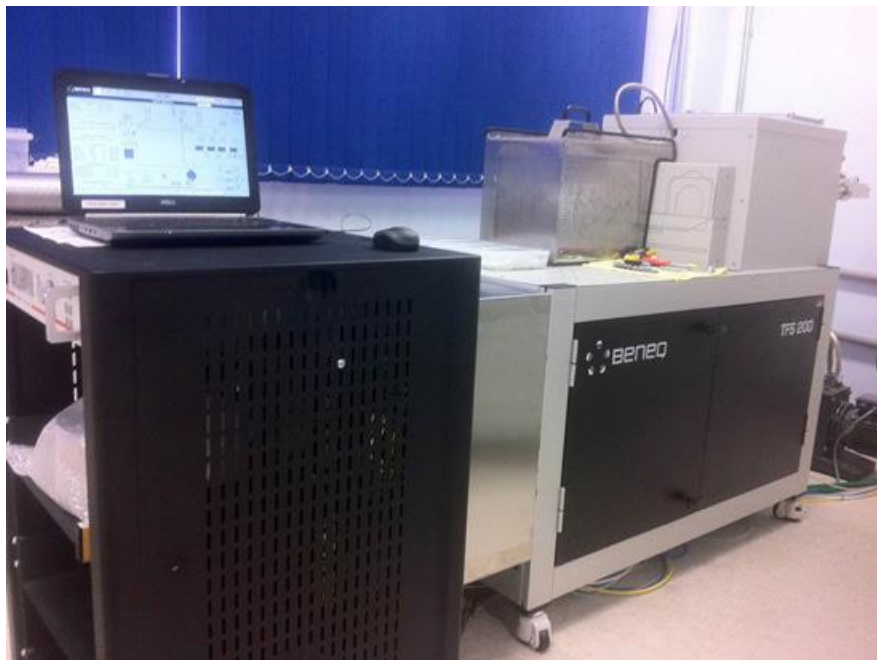


Fonte: Adaptação de CHIAPPIM *et al.* (2016) a partir de CHIAPPIM, W. *et al.* Effect of process temperature and reaction cycle number on atomic layer deposition of TiO₂ thin films using TiCl₄ and H₂O precursors: correlation between material properties and process environment. **Brazilian Journal of Physics**, v. 46, n. 1, p. 56-69, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13538-015-0383-2>. Acesso em: 24 mar. 2019.

Atualmente existem dois principais tipos diferentes de ALD: o ALD térmico (Figura 11), utilizado neste trabalho, e o ALD aprimorado com plasma (PEALD). A técnica ALD operando em modo térmico é aplicada à deposição de finos filmes em

superfícies 2D e 3D, principalmente óxidos metálicos, como o TiO_2 semiconductor explorado neste trabalho (PESSOA; FRAGA, 2019).

Figura 11 - Imagem do sistema ALD.



Fonte: Adaptação de Pessoa *et al.* (2015) a partir de PESSOA, R. S. et al. Nanostructured thin films based on TiO_2 and/or SiC for use in photoelectrochemical cells: A review of the material characteristics, synthesis and recent applications. *Materials Science in Semiconductor Processing*, v. 29, p. 56-68, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369800114003138>. Acesso em: 22 set. 2019.

Os precursores de oxidantes mais frequentemente utilizados na ALD de filmes finos de óxido de metal são: água (H_2O), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), álcoois, ozônio (O_3), oxigênio (O_2), dentre outros. A água é a escolha mais comum de oxidante para as pesquisas e uso industrial (AARIK *et al.*, 2013; LEEM *et al.*, 2014). TiCl_4 é o precursor de titânio mais comumente empregado, devido à sua estabilidade térmica e baixo custo (CHIAPPIM *et al.*, 2016).

O crescimento por ciclo (GPC) do filme fino é um dos principais parâmetros a serem avaliados nos processos ALD. A estrutura do filme (cristalinidade) depende da cinética de crescimento devido a presença de HCl como subproduto durante cada etapa de purga, que por sua vez, depende do menor tempo de purga e temperaturas variáveis. A presença do HCl pode influenciar o crescimento de filme fino de TiO_2 por ciclo (GPC). Os filmes finos de TiO_2 com alto grau de cristalinidade na fase anatase pura podem ser sintetizados com rugosidade superficial diferente, modificando apenas

a temperatura do processo e o número de ciclos de reação (LEEM *et al.*, 2014; CHIAPPIM *et al.*, 2016).

Resíduos de cloro nos filmes por ALD, geralmente a altas temperaturas são quase insignificantes. Nos processos a temperaturas abaixo de 200°C, há uma certa porcentagem de cloro nos filmes de TiO₂. Cloretos deixados na superfície durante o primeiro passo (purga de TiCl₄) têm a tendência de serem removidos durante o segundo passo (purga de H₂O), isto é possível porque as moléculas de TiCl₄ reagem com os grupos hidroxí, e o HCl liberado reabsorve na superfície de TiO₂ (LEEM *et al.*, 2014).

Processos ALD em polímeros mostram que os precursores podem se infiltrar e reagir melhorando significativamente as propriedades mecânicas do material, alguns trabalhos investigaram atividade biocompatível e antimicrobiana de polímeros revestidos por ALD e indicaram propriedades microbicida, microbioestática e modificação da toxicidade do material polimérico (PARSONS *et al.*, 2013).

3 MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS

O impacto das infecções fúngicas relacionadas a dispositivos médicos hospitalares fomenta a necessidade de novas tecnologias para prevenir a formação de biofilmes ou promover sua eliminação após contaminação. A variedade de drogas e desinfetantes convencionais existentes, com efeito fungistático e fungicida, apresentam eficácia comprometida devido à alta resistência a esses tratamentos, e como agravante, muitos desses compostos químicos apresentam efeitos adversos aos pacientes e/ou contaminam o ambiente. O desenvolvimento de propriedades antimicrobianas por meio da modificação de superfícies dos materiais poliméricos utilizados em dispositivos médicos hospitalares, surge como nova estratégia para o controle dessas infecções. Assim, este trabalho contribuirá para a compreensão da remediação de contaminação por biofilmes de *Candida albicans* sobre substratos de PU e PDMS, os tipos de poliméricos mais utilizados na produção dos dispositivos médicos.

3.1 Objetivo Geral

Investigar o crescimento e as propriedades de filmes ultrafinos de dióxido de titânio (TiO₂) pela técnica de deposição por camada atômica (ALD) sobre substratos de PU e PDMS e discutir seus efeitos no crescimento e processo de inativação do biofilme de *Candida albicans*.

3.2 Objetivos específicos

- a) Estudar a cinética de crescimento dos recobrimentos de TiO₂, sobre os substratos poliméricos através da curva de crescimento em função do número de ciclos ALD e investigar as propriedades físicas, químicas e mecânicas dos materiais;
- b) Realizar o crescimento da *Candida albicans* sobre os substratos poliméricos, sem e com recobrimentos de TiO₂, e posteriormente avaliar a capacidade do material de inibir a adesão e crescimento do microrganismo;
- c) Irradiar as superfícies dos substratos contaminadas com *Candida albicans*, utilizando luz UV, visando avaliar o processo de inativação dos microrganismos devido a presença dos recobrimentos sobre os polímeros.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

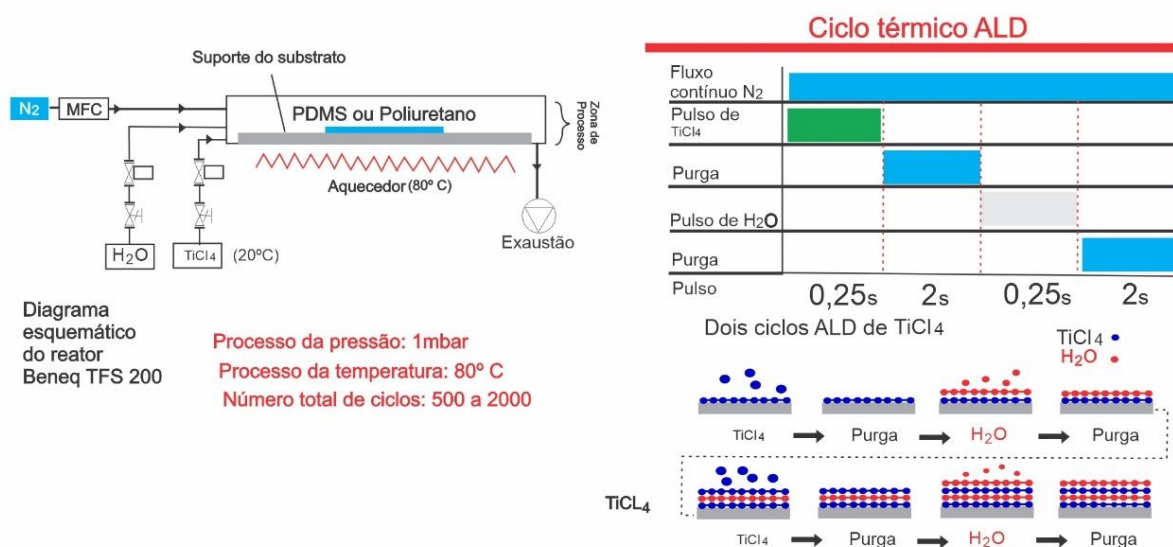
O presente capítulo apresenta a descrição da preparação dos substratos poliméricos e crescimento de filmes finos de TiO_2 por ALD sobre substratos PU e PDMS, em seguida, as técnicas de caracterização de materiais, os ensaios microbiológicos para crescimento e tratamento do biofilme de *Candida albicans* com luz ultravioleta, e o processo de inativação de *Candida albicans*.

4.1 Preparação dos substratos poliméricos e crescimento de filmes finos de TiO_2 por ALD sobre substratos PU e PDMS

Quadrados de 20 X 20 mm de PU e PDMS comerciais foram utilizados como substratos, ambos com espessura de 2 mm. Além disso, pedaços de 10 X 10 mm de wafer de Silício (500 μm de espessura, tipo p, $5 \times 10^{-3} \Omega\cdot\text{cm}$, (100) orientação, University Wafer Inc., South Boston, MA, USA) foram utilizados para análises e discussões complementares. Antes da deposição, os substratos poliméricos e de silicone foram limpos em banho ultrassônico utilizando isopropanol e água deionizada por 5 minutos e, em seguida, secos com nitrogênio gasoso.

Os filmes de TiO_2 foram depositados sobre os substratos de PU e PDMS pelo sistema de ALD TFS-200 (Beneq Oy, Espoo Finland), operando em modo térmico à temperatura de 80 °C. TiCl_4 (99,95% Sigma Aldrich, Darmstádio Alemanha) foi utilizado como precursor de titânio e água deionizada como fonte de oxigênio. Esses foram mantidos a 20°C e utilizados sem gás de arraste. Cada ciclo ALD do TiO_2 consistiu nos seguintes períodos de tempo: pulso de TiCl_4 de 0,25 s; primeira purga de 2 s; pulso de H_2O de 0,25 s; segunda purga de 2 s. Como gás de purga foi utilizado o nitrogênio (N_2 , 99,999% de pureza). Foi utilizado um tubo capilar, adaptado ao reator para controlar o fluxo precursor injetado na câmara ALD apenas pela ação da pressão de vapor do precursor, isto é, não foi utilizado um sistema de borbulhamento. A pressão de base do reator foi inferior a 10^{-2} mbar e, durante a deposição, a pressão do gás foi mantida a cerca de 1,0 mbar através da inserção de 300 sccm de N_2 . Neste trabalho, o número de ciclos de reação variou de 500 a 2000 ciclos, com incrementos de 500 ciclos. Para melhor discutir alguns resultados, as amostras poliméricas foram classificadas como não recobertas (controle) e recobertas com TiO_2 (TC1: 500 CICLOS, TC2: 1000 ciclos, TC3: 1500 ciclos, TC4: 2000 ciclos) (Figura 12).

Figura 12 – Diagrama esquemático do Reator ALD TFS 200. Deposição de filme fino TiO_2 pelos precursores TiCl_4 e H_2O , pulsos de 0,25s respectivamente intercalados com purga de 2s de gás N_2 . Ciclos de reação: (TC1: 500 ciclos, TC2: 1000 ciclos, TC3: 1500 ciclos, TC4: 2000 ciclos).



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO_2 coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

4.2 Técnicas de caracterização de materiais

O comportamento térmico dos substratos PU e PDMS foi avaliado por meio de um analisador térmico Netzsch STA 449-Jupiter. Amostras pesando de 6 a 10 mg foram colocadas em recipientes de alumínio e aquecidas de 25°C a 1000°C, a 10°C min^{-1} , sob uma atmosfera de purga de nitrogênio (50mL min^{-1}). Um espectrômetro FTIR de fase gasosa (Bruker) foi acoplado a um analisador térmico permitindo a investigação dos principais afluentes de gás durante o processo de aquecimento e, conseqüentemente, uma estimativa qualitativa da principal composição de cada substrato.

A espectroscopia de retroespalhamento de Rutherford (RBS) foi usada para determinar a espessura dos filmes depositados e a composição elementar (em %) dos filmes de TiO_2 . O sistema RBS usa um feixe de 2.2 MeV $^4\text{He}^+$ de um tipo de acelerador Pelletron com um detector de partículas posicionado a 170° do feixe incidente. O código de computador SIMNRA foi utilizado para inferir as propriedades do filme a partir dos espectros de RBS (MAYER, 1999; CHIAPPIM *et al.*, 2016).

Os detalhes estruturais dos filmes foram avaliados por meio do sistema de Espectroscopia Raman (Espectrômetro da marca Horiba) equipado com um laser Ion

AR (514.5nm) e uma potência de laser de aproximadamente 6mW. O espectro Raman foi obtido à temperatura ambiente em um alcance de 100 a 1000 cm^{-1} . Além disso, para investigar as ligações químicas do filme de TiO_2 e substrato, medidas infravermelhas, foram realizadas em um espectrômetro ATR-FTIR Perkin Elmer 400 IR a uma resolução de 2 cm^{-1} . Cada espectro ATR foi gravado com células em branco como fundo.

Um equipamento para mensurar ângulo de contato Kruss (Modelo DSA 100S), equipado com um sistema de gravação, foi usado para medir o ângulo de contato dinâmico entre uma gota de água deionizada ou diiodometano e a superfície das amostras de polímero com filme fino de TiO_2 já depositados. Em resumo, uma única gota (2 μL) foi depositada na superfície das amostras por um dispositivo automatizado (sistema seringa-agulha) para gerar uma gota com um volume preciso. Todas as medidas foram realizadas em uma atmosfera umidificada controlada (~ 60%) e em triplicata. Para a calibração do equipamento foram utilizadas as séries CP23 e CP24 de acordo com as instruções do fabricante. Essas séries continham padrões que seguiam a forma de gota teórica de acordo com o método Young-Laplace, isto é, com formas de 30°, 60° e 120° (desvio de menos 0,1° dos valores nominais). As constantes polares e dispersivas coletadas de cada líquido em amostras foram usadas para calcular a energia de superfície (SFE) usando o método Owens. Os valores SFE foram utilizados para calcular o trabalho termodinâmico de adesão (W_{Adh}) entre a superfície das amostras e as cepas de *Candida albicans* (SCHNEIDER, 1996; SILVA, 2010).

4.3 Ensaios microbiológicos: crescimento e tratamento do biofilme de *Candida albicans* com luz ultravioleta

Neste trabalho, foi utilizada a cepa padrão ATCC® (American Type Culture Collection) de *Candida albicans* (10231) para o crescimento de biofilme. Uma suspensão fúngica, a uma concentração de 10⁶ UFC/mL, de Caldo Sabouraud Dextrose (marca DIFCO), foi preparada e os substratos de PU, PDMS foram previamente lavados com um detergente multienzimático (marca 3M™) e secos, subsequentemente foram colocados em frascos contendo 20mL da suspensão fúngica. Os frascos foram incubados a 37°C durante 24 h sob agitação constante (110 rpm) em incubadora. No final do período de incubação, as amostras foram removidas

dos tubos e lavadas com tampão fosfato (PBS, pH = 7,2 ± 0,1) para remover as células não aderidas (VASCONCELOS *et al.*, 2014).

4.4 Processo de inativação de *Candida albicans*

Relativo ao processo de inativação do biofilme, as amostras foram expostas em paralelo à radiação UV utilizando uma lâmpada UV (pico a 365nm) com uma irradiância de 1,1 mW/cm² durante o período de 1 hora. Após a exposição à UV, as amostras não contaminadas e contaminadas com *Candida albicans* foram colocadas em tubos contendo 10 mL de PBS e o biofilme foi desprendido utilizando um agitador Vórtex. Em sequência, 0,1 mL desta suspensão foi semeada em ágar Sabouraud Dextrose, pela técnica de espalhamento, e incubadas durante 48h a 37 °C para determinar o número de células viáveis em termos de unidades formadoras de colônias (UFC). A propriedade antifúngica dos revestimentos (% de redução) foi calculada com base na razão de fungos sobreviventes na amostra para o número inicial de fungos numa amostra de controle, como se segue:

$$\% \text{ de redução UFC} = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad (\text{TATLIDIL } et \text{ al.}, 2011).$$

Onde N₀ e N são o número de UFCs antes e depois da irradiação com UV, respectivamente. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) (TM 3000 da Hitachi) foi utilizada para se obter micrografias das leveduras e/ou hifas de *Candida albicans* presentes nas amostras antes e após à irradiação UV.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo foi subdividido em seções para melhor descrever os principais resultados e discutir com a literatura existente, bem como enfatizar as contribuições inéditas do trabalho. Portanto, foi realizado e apresentado a avaliação termogravimétrica dos substratos PU e PDMS, as análises Raman e FTIR dos substratos não recobertos e recobertos com TiO₂, a análise RBS para determinação da espessura do filme TiO₂ e composição elementar dos substratos e do filme TiO₂, o ângulo de contato, o trabalho de adesão e crescimento de *Candida albicans*, e por fim, análises MEV das superfícies contaminadas por *Candida albicans* antes e após tratamento com radiação UV.

5.1 Avaliação de Termogravimetria dos substratos PU e PDMS

As Figuras 13a e 13b apresentam as curvas termogravimétricas e primeiras derivadas (dTGs) dos substratos PU e PDMS sem filme fino de TiO₂, respectivamente.

Conforme a figura 13b, o PU comercial apresentou grande estabilidade térmica até 250°C, portanto não foi observado nenhuma perda significativa de massa até nesse nível de temperatura.

Uma perda única e maciça de massa dos substratos, somente foi observada de 250°C a 480°C (96%), a qual pode ser atribuída à decomposição térmica das cadeias poliméricas. Esse evento se inicia com a liberação de CO_(g) e CO_{2(g)} (no pico a 2274 cm⁻¹) a partir de 290°C e subsequente liberação de CH_n (nas bandas entre 3000-2700 cm⁻¹) contendo grupos de C-O-C (bandas entre 1200-1100 cm⁻¹), como pode ser observado na análise FTIR em fase gasosa durante o processo de aquecimento (Figura 13c).

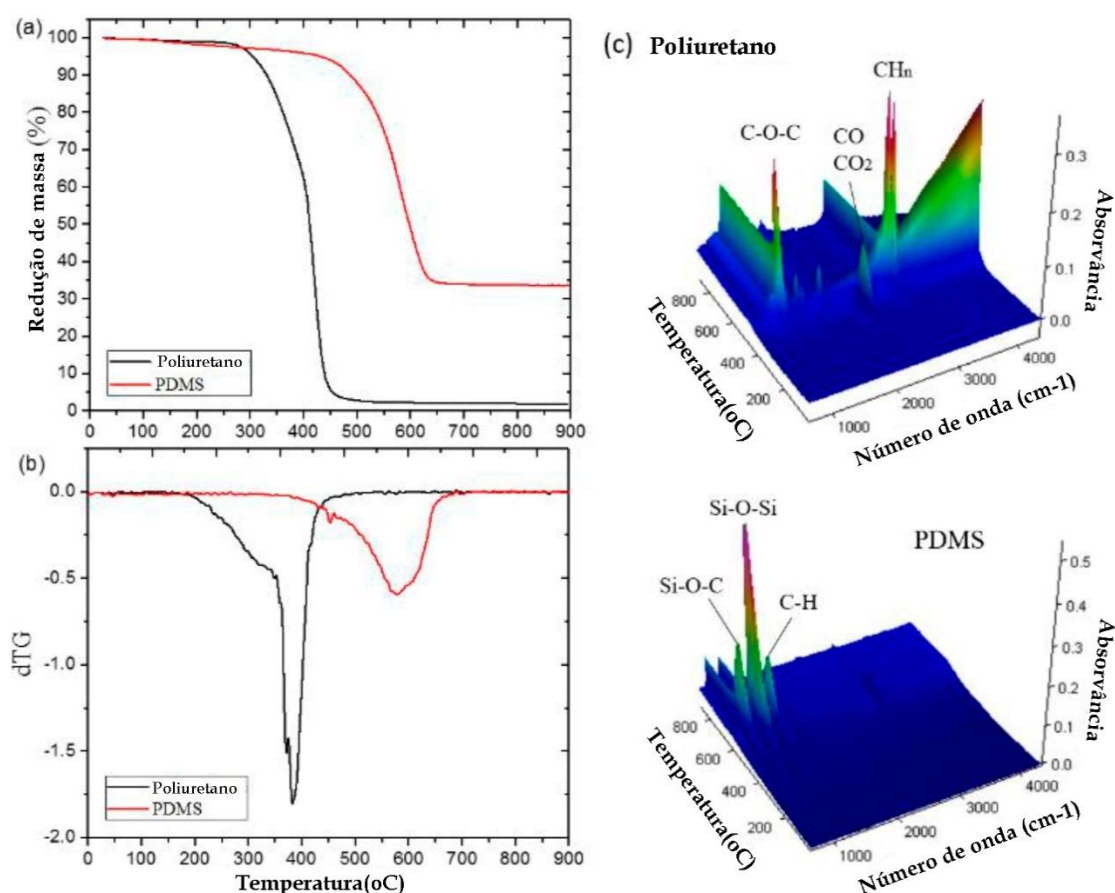
Para o PDMS (Figura 13b), foi observado um estágio único e maciço de perda de massa em um alcance de 410-670°C (~ 66,5%), ou seja, mostrou-se bem mais resistente à temperatura que o PU.

A decomposição do PDMS sob atmosfera inerte, tal como em N₂, geralmente ocorre devido à despolimerização térmica, que leva à formação de octametilciclotetrasiloxano (OMCTS) e hexametilciclotrisiloxano (HMCTS) como principais produtos. A literatura relata a formação da OMCTS/HMCTS na razão de 0.1 (GUN'KO *et al.*, 2007).

Embora a ligação térmica mais fraca em PDMS seja aquela entre C e Si (ligação C-Si, 78 kcal mol⁻¹), os oligômeros cíclicos formados devido as suas decomposições sugerem que a ligação Si-O se rompa (> energia, 108 kcal mol⁻¹) (CAMINO; LOMAKIN; LAZZARI, 2001).

A análise do espectro FTIR em fase gasosa (Figura 13c) sugeriu uma mistura típica de oligômeros, como esperado, com as principais absorções nos seguintes números de onda: 814 cm⁻¹ (Si-O-C); 1023 cm⁻¹ (Si-O-Si) e 1264 cm⁻¹ (C-H em Si-CH₃) (CAMINO; LOMAKIN; LAGEARD, 2002).

Figura 13 (a, b) – Análise termogravimétrica (dTG) de substratos PU e PDMS (atmosfera de N₂ a 50 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹) e (c) Espectros FTIR da fase gasosa durante o processo de aquecimento de substratos de PU e PDMS.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

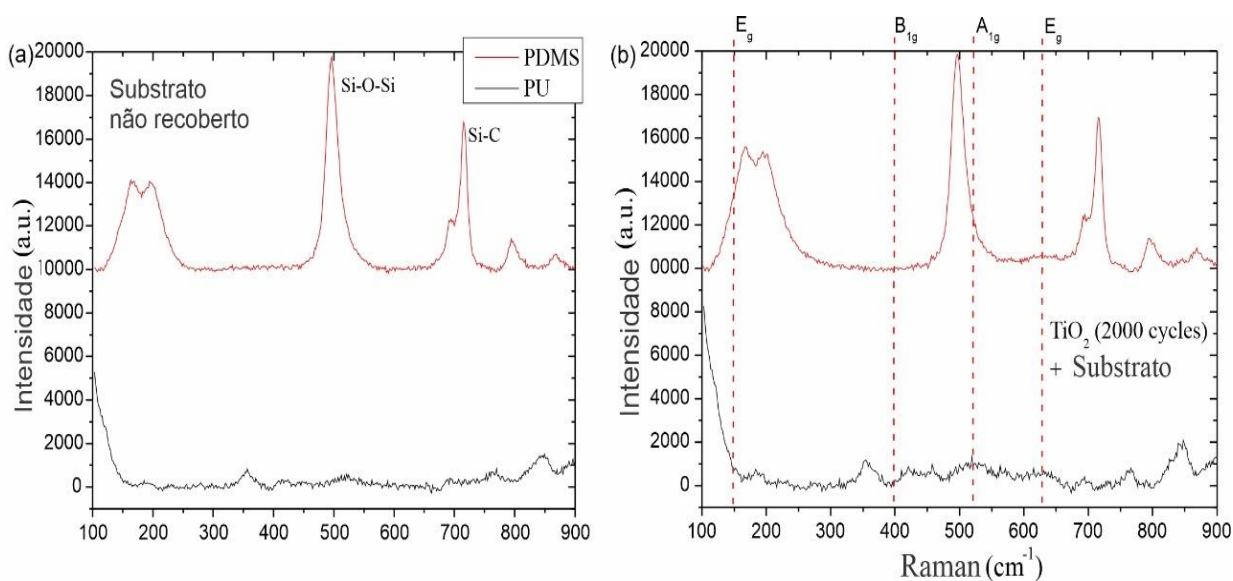
Em resumo, a alta estabilidade térmica de até 250°C para PU e PDMS mostra que as condições de ALD TiO₂ utilizadas neste trabalho, isto é, a 80°C (sob atmosfera

N₂), não apresentaram nenhum impacto negativo na integridade do substrato. Além disso, esses resultados sugerem que trabalhos futuros possam ser realizados na condição de temperaturas mais altas para ALD/TiO₂, com o objetivo de entender melhor a correlação da temperatura no processo ALD.

5.2 Análises Espectroscopia Raman e Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos substratos não recobertos e recobertos com TiO₂

As análises Raman, foi realizada para determinar a composição do material. A Figura 14, mostra espectros Raman de substratos poliméricos não recobertos (a) e substratos poliméricos recobertos com TiO₂ e (b) para condições de 2000 ciclos. Quando cultivada em estrutura cristalina anatase, o respectivo espectro Raman de TiO₂ apresenta os quatro principais modos ativos Raman, nomeadamente, A_{1g} (519 cm⁻¹), B_{1g} (397 cm⁻¹) e E_g (144 e 636 cm⁻¹) (CHIAPPIM *et al.*, 2016; TESTONI *et al.*, 2016). Ficou evidente a condição amorfa dos filmes finos de TiO₂, após sua deposição, devido à falta de um pico forte a 144 cm⁻¹ para ambos substratos poliméricos.

Figura 14 – Espectro Raman de substratos PDMS e PU não recobertos (a) e recobertos de TiO₂ (b).



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

A ligação diferente presente em substratos não recobertos e recobertos por TiO_2 foi investigada pela análise da espectroscopia FTIR. As Figuras 15a e 15b apresentam, respectivamente, o espectro FTIR para o substrato PU não recoberto e para o PU recoberto com o filme de TiO_2 depositado para diferentes números de ciclo de reação.

Primeiramente, os principais picos do espectro FTIR do substrato PU foram identificados. A banda de absorvância no número de onda de 3296.8 cm^{-1} é atribuída à vibração de alongamento do N-H (CHARPENTIER *et al.*, 2012). Os picos a 2940 cm^{-1} e 2854 cm^{-1} podem ser atribuídos às vibrações de alongamento assimétricas e simétricas do CH_2 , respectivamente (VASCONCELOS *et al.*, 2011).

A banda em 1728 cm^{-1} é atribuída às vibrações de alongamento de grupos C=O, ligados a hidrogênio. A banda em 1530 cm^{-1} é da amida II (dobra de uretano N-H + alongamento C-N), e as bandas no número de onda de 1228 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} são atribuídas à vibração de valência de C-O-C (modos de alongamento de ligação única C-O) (ZAVASTIN *et al.*, 2010).

Em segundo lugar, os espectros FTIR do substrato do filme TiO_2/PU foram analisados e permitiram verificar que as bandas de absorvância típicas de PU estão presentes. Entretanto, devido ao aumento do número de ciclos de reação (ou espessura do filme), foi observado uma diminuição na intensidade das principais bandas de absorvância para PU. Somente as bandas de absorvância relacionadas ao grupo N-H e para o intervalo de número de onda de $450\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$ aumentou com o ciclo de reação.

Kong e Narine (2007), observaram que o aumento de intensidade de banda de absorção do grupo N-H está relacionado com a diminuição da razão molar OH/NCO, evidenciando que a concentração das ligações de uretano no PU é aumentada. Por outro lado, acredita-se que o aumento das bandas de absorvância entre $450\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$ seja devido às ligações Ti-O e Ti-O-Ti (VASCONCELOS *et al.*, 2011; ZEITLER; BROWN, 1957).

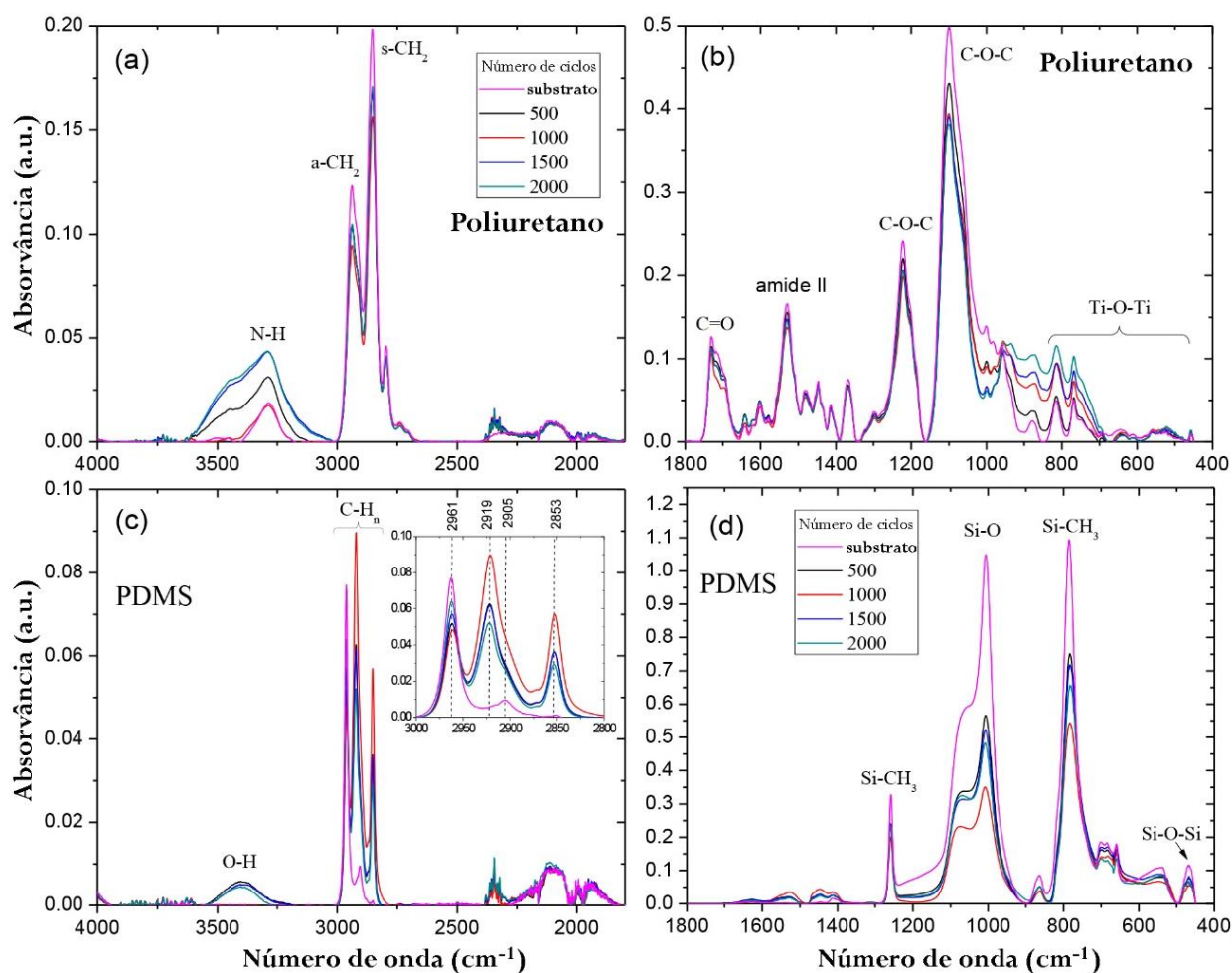
As figuras 15c e 15d apresentam o espectro FTIR para o substrato PDMS não recoberto e PDMS recoberto com filme de TiO_2 depositado sob as mesmas condições das amostras de PU. Bandas de absorção a um alcance de número de onda de $3000 - 2750 \text{ cm}^{-1}$ são atribuídos ao modo de vibração do alongamento C-H_n (BANERJEE; CHATTOPADHYAY, 2014). Pode-se observar que o pico em torno de 2961 cm^{-1} fica

menos intenso com o aumento do número de ciclos, enquanto picos entre 2950 e 2800 cm^{-1} ficaram mais elevados.

A 1411 cm^{-1} , há uma banda de absorção característica da deformação dos grupos metil. A banda de absorção forte a 1256 cm^{-1} é atribuída ao modo de vibração do alongamento $-\text{Si}-\text{CH}_3$ (BRUNI *et al.*, 1999).

A banda de absorção forte a 1072 e 1013 cm^{-1} são atribuídas ao modo de vibração do alongamento $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$. A banda de absorção a 782 cm^{-1} é atribuída ao modo de vibração assimétrico do alongamento $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$, enquanto a banda de absorção 689 cm^{-1} está relacionada à deformação da ligação $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ (HANAOR; TRIANI; SORRELL, 2011; TAVARES *et al.*, 2014).

Figura 15 – Espectros FTIR de substratos de PU não recobertos e recobertos por TiO_2 (a,b) e Espectro FTIR de substratos de PDMS não recobertos e recobertos por TiO_2 (c,d).



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO_2 coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. Applied Surface Science, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

A partir da análise FTIR, pode-se observar picos similares para PDMS recoberto por filme fino de TiO_2 no alcance de número de onda de $400\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, onde, para números de onda mais baixos que 1800 cm^{-1} (Figura 15d), observou-se uma diminuição de intensidade de números de onda para os picos principais de PDMS. Esse comportamento também foi observado para PU e foi atribuído ao aumento da espessura do filme de TiO_2 . Enquanto isso, um amplo pico de absorção aparece em torno de 3400 cm^{-1} indicando a formação de grupos hidroxila (HUSZANK *et al.*, 2011). Logo, ocorreu redução de intensidade de número de onda para os principais picos à medida que aumentou a espessura do filme TiO_2/PU e TiO_2/PDMS .

5.3 Análise espectroscopia de Retroespalhamento Rutherford (RBS): determinação da espessura do filme TiO_2 e composição elementar dos substratos recobertos pelo filme TiO_2

Como observado nas análises de Termogravimetria, FTIR da fase gasosa e ATR-FTIR, o PU comercial usado neste trabalho é composto de C, O, N e H, corroborando com a composição principal dos PUs investigados na literatura (BRZESKA, 2015).

Foi utilizado a técnica RBS para determinar a espessura do filme TiO_2 e a composição elementar do PU recoberto por TiO_2 . Entretanto, para isso, foi necessário conhecer a composição elementar do substrato PU, pois durante o levantamento do referencial teórico, não foi encontrado estudo publicado apresentando a composição elementar do PU.

Devido à pouca sensibilidade da técnica RBS para elementos leves, como hidrogênio (BORYSIUK *et al.*, 2013), foram feitos ajustes entre espectros experimentais e simulados (Figura 16) e por isso, não foi considerado o hidrogênio na composição elementar dos substratos poliméricos nesta etapa.

A Figura 16a mostra os espectros RBS experimental e simulado do filme de TiO_2 depositado em PU na condição de 2000 ciclos de reação. Para se adequar ao espectro RBS experimental, primeiramente foi necessário conhecer a composição elementar do substrato de PU usado neste trabalho.

A proporção calculada de cada elemento foi encontrada como se segue: C=66,6%, O=16,7% e N= 16,7%. Para alcançar esse resultado, foi levado em consideração o filme de TiO_2 e a rugosidade da superfície entre o substrato e filme

(condição da simulação 1). Observe que, se a rugosidade da superfície não tivesse sido considerada durante o ajuste do espectro RBS experimental (condição simulação 2), poderia se obter uma espessura de filme de TiO_2 e uma composição elementar não fidedigna como resultado.

No caso da Figura 16a, as concentrações simuladas de Ti e O em filme TiO_2 foram de 29% e 69% respectivamente. Por causa da baixa temperatura do processo ALD, ainda há presença de cloro no filme, cuja concentração foi calculada cerca de 2%.

No que diz respeito ao PDMS (Figura 16b), as análises de TG, FTIR da fase gasosa e ATR-FTIR indicaram uma composição de Si, C, N, O e H, como foi esperado. Como o hidrogênio não estava incluído na simulação, a proporção dos elementos PDMS foi ajustada como segue: Si=21.8%, C=23.6%, N=27.3% e O=27.3%. Para este propósito, foi necessário considerar a rugosidade da superfície entre o substrato e o filme para melhor ajuste com a curva RBS experimental.

Em relação ao filme TiO_2 , as concentrações de Ti e O foram de 29% e 65%, respectivamente. A redução de O estava relacionada à incorporação de cloro, que, para o TiO_2 /PDMS, foi de 6%. Esse fato indica que um tipo de substrato polimérico teve influência considerável na adsorção de cloro durante o processo de ALD à baixa temperatura quando um halogeneto TiCl_4 foi usado.

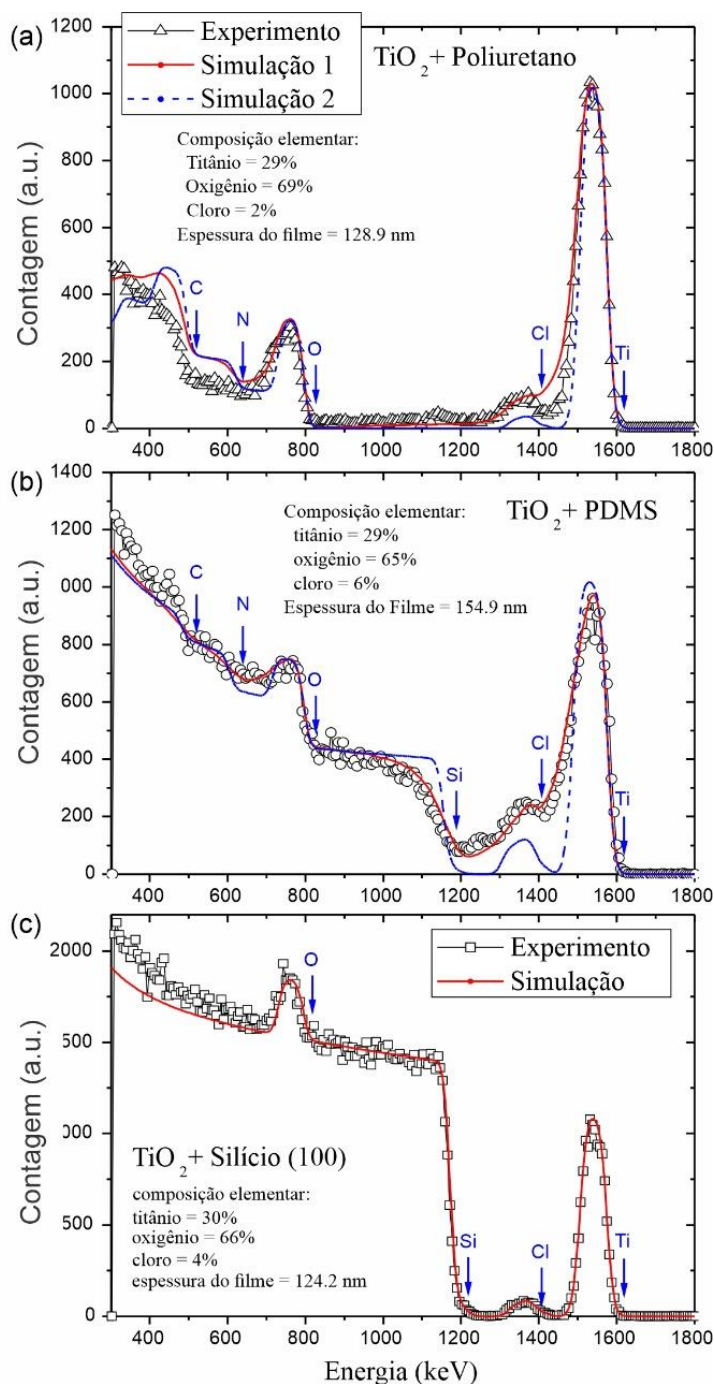
Como indicado por Parsons (2011), os primeiros poucos ciclos de crescimento por ALD podem resultar em diferentes tipos de ligações químicas na superfície dos poliméricos comparando-se ao mesmo processo ALD em superfícies sólidas inorgânicas, tais como o silicone.

Para melhor discutir a questão mencionada e validar as simulações feitas para substratos poliméricos, também foram analisados os filmes TiO_2 depositados no substrato Silício – Si (100) (Figura 16c). O sinal retroespalhado da camada TiO_2 depositada para o substrato Si (100) levou ao aparecimento de um pico de Ti bem definido, como também picos definidos de O e Cl.

Em relação ao substrato Si, foi observado que as concentrações de Ti, O e Cl foram de 30%, 66% e 4%, respectivamente, o que corroborou com as análises prévias retratadas nas figuras 16a e 16b. É importante enfatizar que, para o Si como substrato, o filme TiO_2 segue a sua superfície caracterizada por baixa rugosidade (na ordem de 0.2 nm RMS (TESTONI *et al.*, 2016; ELAM *et al.*, 2003).

Devido à baixa rugosidade de superfície do Si e características amorfas do TiO_2 (GUO *et al.*, 2017), para efeito de simulação do espectro RBS, a rugosidade da superfície entre os materiais não foi considerada.

Figura 16 – Espectros RBS de substratos de TiO_2/PU , TiO_2/PDMS e $\text{TiO}_2/\text{Silício}(100)$. O filme de TiO_2 cresceu em condições de 2000 ciclos de reação.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO_2 coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. Applied Surface Science, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

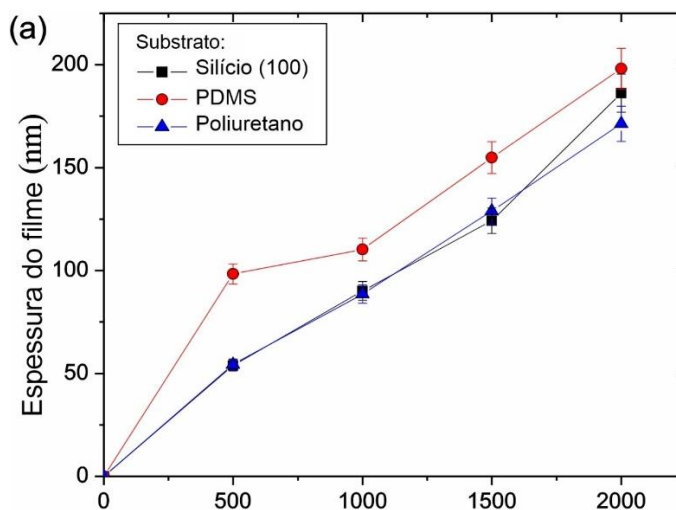
A Figura 17 mostra a espessura do filme e o crescimento por ciclo (GPC) dos filmes finos de TiO_2 por ALD crescidos sobre PU, PDMS e Si(100) em função do número de ciclos, assim determinados para este estudo: (TC1: 500 ciclos, TC2: 1000 ciclos, TC3: 1500 ciclos, TC4: 2000 ciclos).

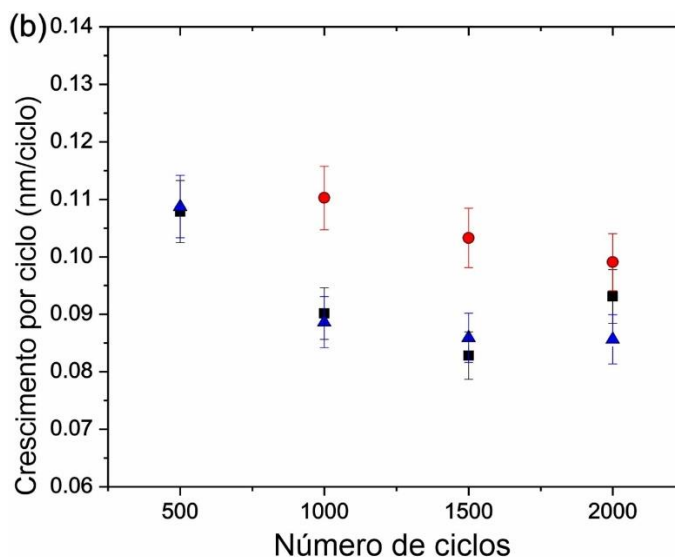
Na Figura 17a, uma associação linear da espessura do filme com o número de ciclos de reação para substratos PU e Si (100) foi observada. O crescimento linear é característico dos processos ALD, como já apresentado na literatura, outros óxidos tais como Al_2O_3 e HfO_2 também apresentaram este comportamento (AARIK *et al.*, 2013; RITALA *et al.*, 1994). Para o caso do PDMS, essa linearidade não foi bem seguida nos primeiros 500 ciclos, porém, a partir de 1000 ciclos, foi observado esse comportamento.

Em relação ao GPC em função do número de ciclos para este estudo, representado na Figura 17b, observou-se uma dependência do tipo de substrato e do número de ciclos de reação, apresentando um GPC considerável para o TiO_2 depositado no PDMS e no Si (100).

Sabe-se que o GPC depende das propriedades da superfície do substrato, bem como das propriedades do filme em crescimento. Como a influência da superfície do substrato evidentemente diminui com o aumento da espessura do filme, enquanto as propriedades da superfície do filme em crescimento podem mudar significativamente durante um processo ALD, uma dependência acentuada do GPC em relação ao número de ciclos de reação pode aparecer. Dados que também foram observados previamente em outros estudos (AARIK *et al.*, 2013; TARRE *et al.*, 2008).

Figura 17 – Espessura dos filmes de TiO_2 crescidos sobre os substratos PU, PDMS em função do número de ciclos ALD. O GPC dos filmes de TiO_2 crescidos em substrato de Silício(100) foi considerado para comparação.





Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

A Figura 18 apresenta a composição elementar dos filmes de TiO₂ em função do número de ciclos para PU, PDMS e Si. A Figura 18a, mostra a concentração de Ti em função do número de ciclos. Para o PDMS observou-se um aumento da porcentagem de Ti, enquanto que para PU e Si a % de Ti ficou saturada para o número de ciclos de reação maior que 1000.

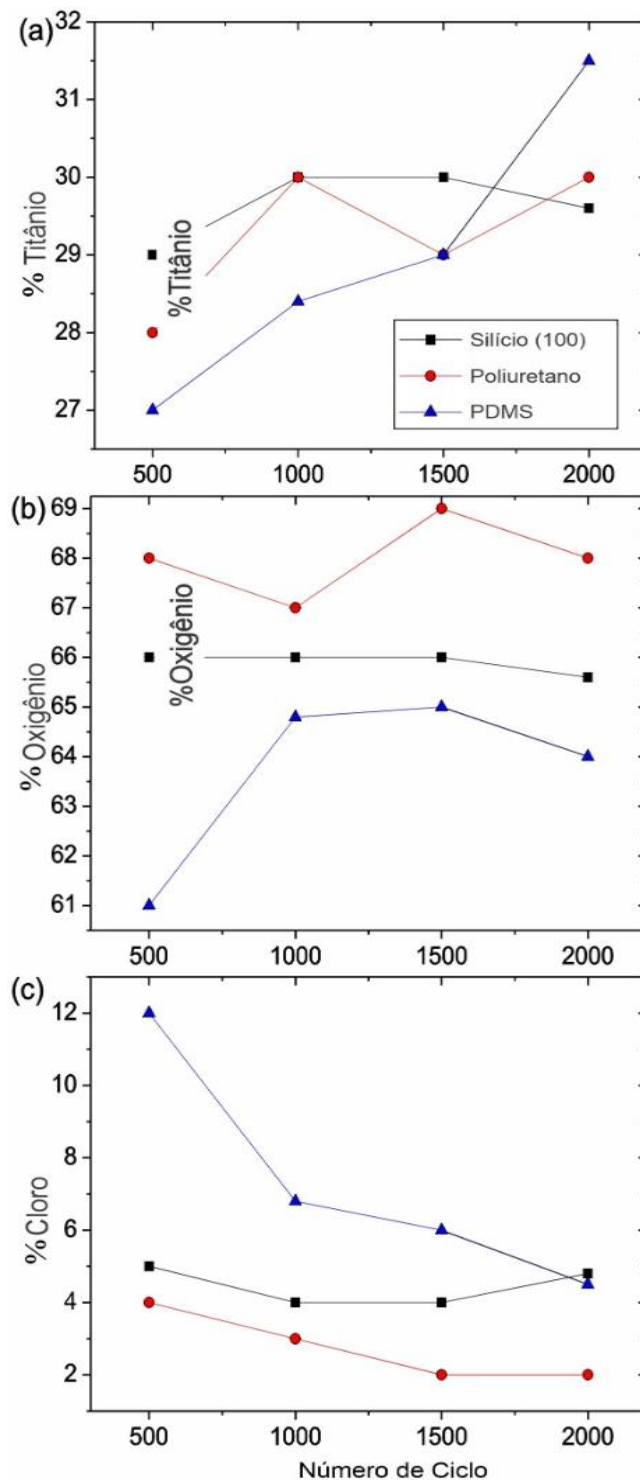
No caso do oxigênio, a Figura 18b mostrou que a concentração de Oxigênio foi na ordem de 66% para Si e variou de 67-69% para PU. Para PDMS, a % Oxigênio variou de 61% a 64.6% quando o número de ciclos de reação foi de 500 a 1000, saturando para valores mais altos que 1000.

A correlação da concentração de cloro com a reação do ciclo é mostrada na Figura 18c. Nota-se que a concentração de Cloro diminuiu quase linearmente com o número de ciclos de reação para ambos os substratos de PU e PDMS. À medida que o número de ciclos de reação aumentava, a concentração de cloro diminuiu de 12% para 4.5% e de 4% para 2% para PDMS e PU, respectivamente. Enquanto isso, para os filmes de TiO₂ depositados em Si (100), a concentração de cloro variou de 4% a 5%.

Apesar desse estudo não ter analisado a biocompatibilidade dos filmes dopados com cloro para aplicações em dispositivos biomédicos, infere-se que na temperatura corporal de 37°C, não haveria risco do cloro desprender-se dos substratos e tornar-se tóxico para o organismo. Alguns estudos demonstraram que na

medida que processos ALD são realizados a temperaturas mais altas, a porcentagem de cloro nos substratos diminui (LEEM *et al.*, 2014; CHIAPPIM *et al.*, 2016).

Figura 18 – Composição elemental (em %) de filmes finos de TiO_2 obtidos por Espectro RBS em função do número de ciclos de reação para substratos de Silício(100), PU e PDMS. Titânio (a), Oxigênio (b), e Cloro (c).



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO_2 coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

A alta variação e a diferença da concentração de cloro de acordo com a espessura do filme de TiO_2 e o tipo de substrato é intrigante. Banerjee e Chattopadhyay (2014), relataram a dopagem dos filmes finos de DLC com cloro e verificaram, por meio do FTIR, que o modo de vibração relacionado ao C-H_n está diretamente relacionado à concentração cloro no filme.

No presente estudo, esse fato pode também ser observado no espectro FTIR (Figura 15 a, c). Para o PDMS, a variação considerável de intensidade nos picos C-H_n foi observada à medida que a espessura do filme TiO_2 aumentava, enquanto somente uma pequena variação foi observada para PU. Por sua vez, esses resultados corroboram com o comportamento da concentração de cloro observada para ambos os substratos de PU e PDMS.

Além disso, uma explicação plausível para a redução de cloro com a espessura do filme de TiO_2 depende do fato de que, enquanto o TiO_2 cresce em um substrato polimérico, os radicais TiCl_4 (precursor) e o HCl (subproduto) podem reagir com a superfície do polímero, o que permite uma melhor absorção de cloro. À medida que a espessura do filme aumenta, essas reações são reduzidas.

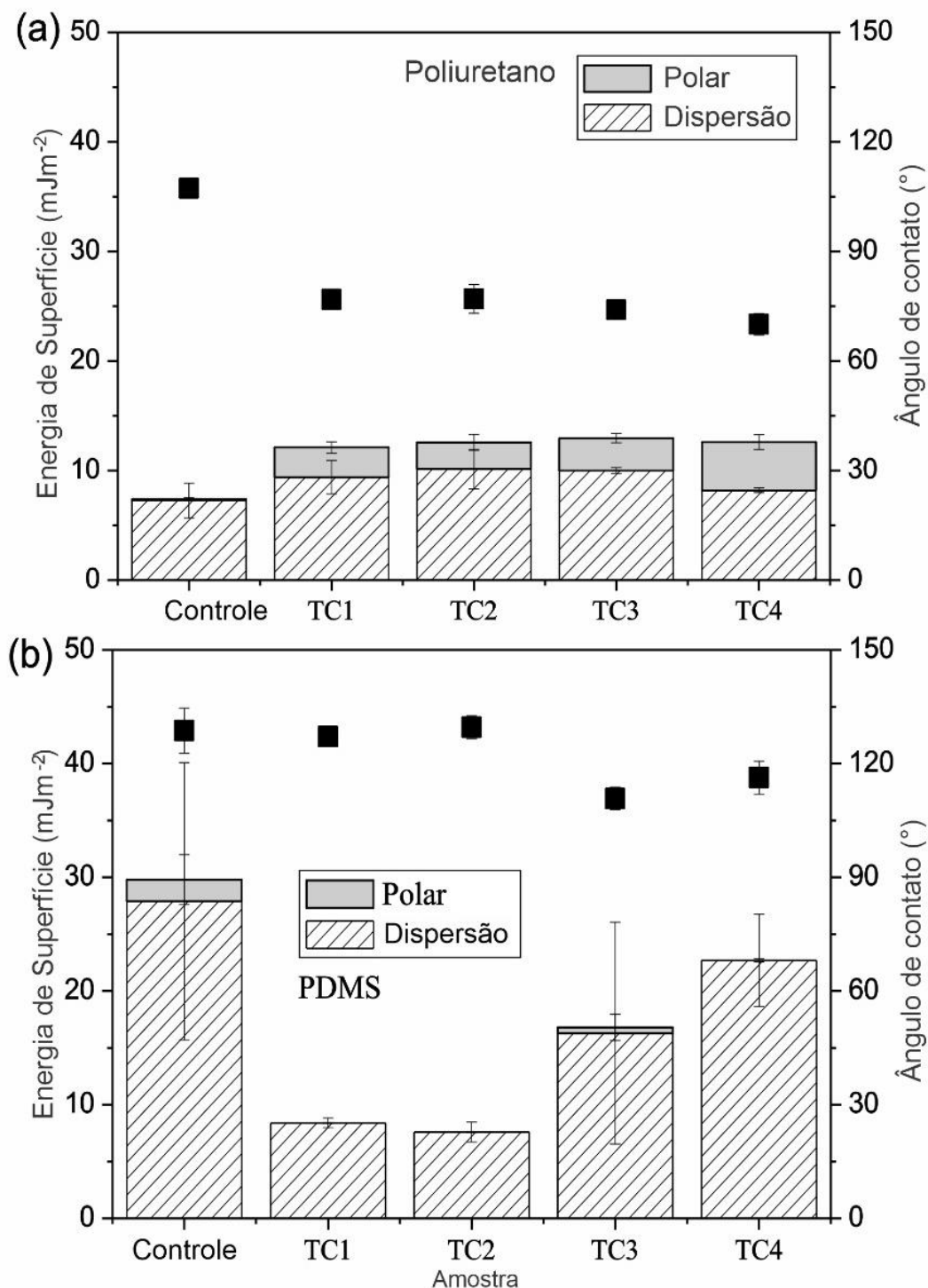
No que diz respeito as concentrações de cloro mais baixas nos filmes de TiO_2 cultivados em PU comparando-se com PDMS e Si, a ausência de Silício na estrutura química do poliuretano pode ser a razão mais provável para este efeito, pois a superfície do PDMS tem uma taxa de adsorção mais alta para o cloro (KALERED *et al.*, 2013).

5.4 Ângulo de contato, trabalho de adesão e crescimento de *Candida albicans*

A Figura 19 apresenta o ângulo de contato com a superfície da água (ACA) e a energia de superfície (SFE) em função do número de ciclos para substratos de PU e PDMS (controle) e recobertos, sob diferentes ciclos de reação para o crescimento de filmes de TiO_2 , isto é, TC1 = 500 ciclos, TC2= 1000, TC3=1500 e TC4=2000. É importante enfatizar aqui que as medidas foram feitas após 80h de deposição do filme de TiO_2 . Como pode ser observado na Figura 19a, o ACA da água para controle de PU foi de $107,3^\circ$, enquanto para TiO_2/PU variou, quase linearmente, de $76,8^\circ$ (amostra TC1) a $70,1^\circ$ (TC4). O ângulo de contato de TC4 correspondeu a uma redução de 35% em relação à amostra controle. De modo inverso, a Figura 19b aponta que, para

amostra controle PDMS, o ACA foi de 128,7°, o que reduziu um pouco para 116,3° (amostra TC4), isto é, uma redução de 9.6%.

Figura 19 – Ângulo de contato e energia de superfície para ambos os substratos: (a) PU controle e PU recoberto por TiO₂; (b) PDMS controle e PDMS recoberto por TiO₂, em função do número de ciclos.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

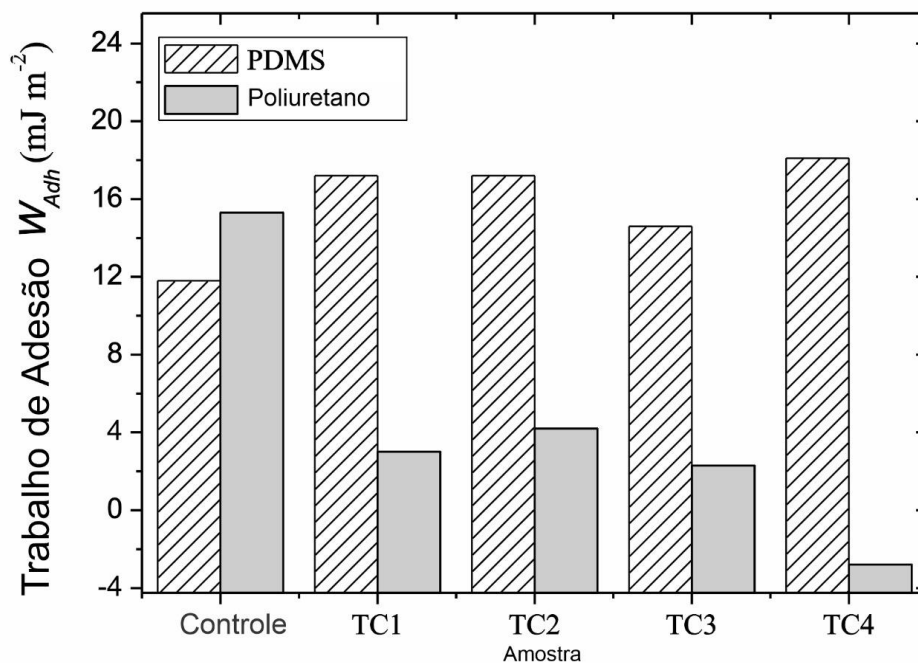
Os grupos metil no PDMS tornam a sua superfície intrinsicamente hidrofóbica (FUARD *et al.*, 2008). A partir desses resultados, pode-se inferir que o recobrimento de TiO₂ funcionou melhor para reduzir o caráter hidrofóbico da amostra de PU quando comparado ao PDMS. Embora a aplicação do recobrimento de TiO₂ no PDMS ou PU para melhorar propriedades antimicrobianas não tenham sido encontradas na literatura, outros materiais já foram testados, como o Al₂O₃. Spagnola *et al.* investigaram a estabilidade de molhabilidade do revestimento PDMS com o Al₂O₃ sob temperatura baixa (120°C) por ALD. Eles observaram que o ângulo de contato de PDMS foi reduzido em ~ 9% para filmes com espessura por volta de 10 nm.

Uma das mais importantes aplicações da medida do ângulo de contato é a avaliação do SFE do sólido, que é equivalente à tensão superficial da água. O total SFE é a soma de seus componentes polares e dispersivos. O componente polar é o indicador quantitativo de hidrofilicidade. No caso do PU, o aumento da SFE é justificado devido a um aumento no componente polar com o tratamento. Isso pode favorecer o espalhamento celular e de suas proteínas sobre a superfície (VAN DER VALK *et al.*, 1983). Por outro lado, nenhum padrão foi encontrado para PDMS.

Os resultados do ângulo de contato foram obtidos sem o tratamento de radiação UV, para que se possa verificar a influência do filme de TiO₂ no cultivo da *Candida albicans* comparando-se a substratos não recobertos. Quanto maior é o ângulo de contato ou mais positivo é o trabalho de adesão (W_{Adh}), mais desfavorável é a adesão de microrganismo em uma superfície (SOUSA; TEIXEIRA; OLIVEIRA, 2009).

A Figura 20 apresenta o trabalho de adesão (W_{Adh}) entre a superfície das amostras e as cepas de *Candida albicans*. Observa-se que, para o PU, o W_{Adh} diminuiu consideravelmente com o aumento da espessura do filme de TiO₂, alcançando um valor negativo para a amostra TC4. Por outro lado, para o PDMS, o W_{Adh} das amostras recobertas com TiO₂ aumentou ligeiramente o pico com relação ao controle e com a espessura do filme. Portanto, o crescimento de filmes de TiO₂ por ALD em PU pode favorecer a fixação de leveduras de *Candida albicans*, enquanto para o PDMS pode reduzi-la.

Figura 20 – Trabalho termodinâmico de adesão entre as cepas de *Candida albicans*. e as superfícies das amostras não recobertas e recobertas com TiO₂.

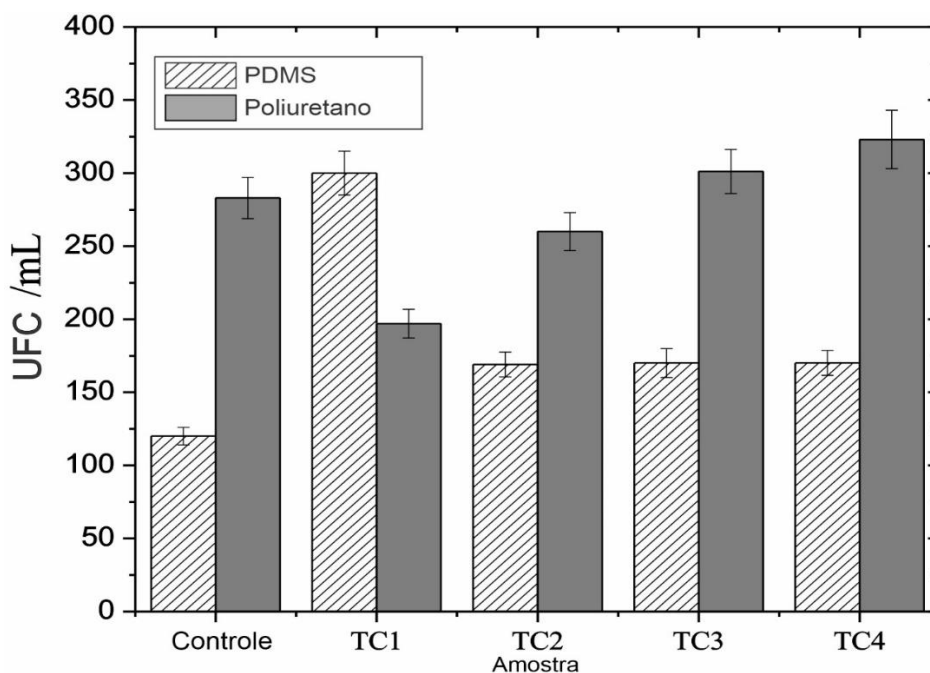


Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

Para verificar esses resultados, a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) após o crescimento de *Candida albicans* em substratos foi realizado (Figura 21). Os resultados indicam aumento da adesão de leveduras de *Candida albicans* para a amostra controle de PU e para as amostras de TiO₂/PU em TC3 e TC4.

No entanto, para o PDMS, um comportamento diferente foi observado, ou seja, a cobertura da superfície do PDMS com TiO₂, em TC1, aumentou consideravelmente a fixação de leveduras de *Candida albicans* em comparação com o controle, já a partir de TC2, TC3 e TC4, observa-se redução da adesão, ficando constante independente do aumento do número de ciclos de reação.

Figura 21 – Contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs)/mL de leveduras de *Candida albicans* cultivadas nas amostras não recobertas (controle) e nos substratos recobertos com TiO₂.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

Com o objetivo de complementar os resultados anteriores, foram obtidas micrografias por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de algumas amostras e apresentados na Figura 22. Como pode ser observado nas ilustrações, embora a UFC tenha aumentado com a espessura do filme TiO₂/PU, a estrutura morfológica do *Candida albicans* muda quando o PU é recoberto com TiO₂, ou seja, a estrutura comum de leveduras e hifas de *Candida albicans* desenvolvida na superfície de PU foi reduzida para somente leveduras nas amostras TiO₂/PU, indicando a ocorrência de supressão da transição levedura-hifa do *Candida albicans* na superfície, devido ao recobrimento do filme de TiO₂.

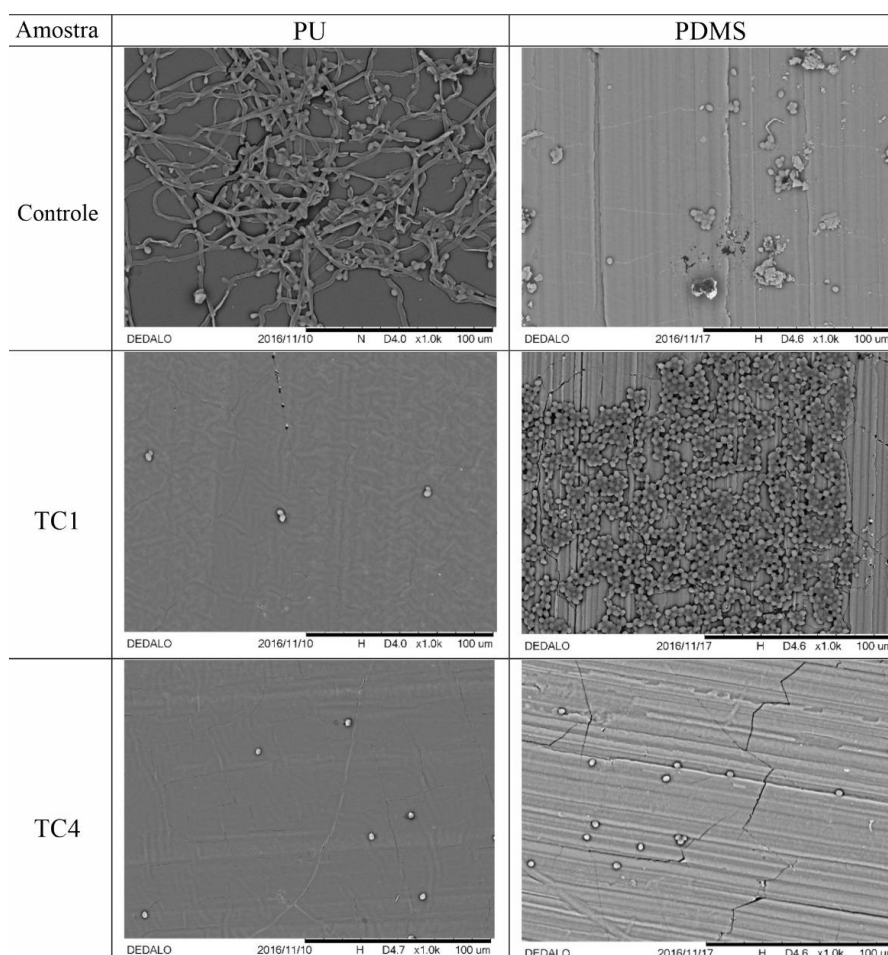
Esse resultado ressalta que o filme TiO₂ pode melhorar a propriedade antimicrobiana do PU recoberto com TiO₂, mesmo sem exposição a UV, além disso, inibe a formação de biofilme.

Brzeska (2015) estudou a inibição fúngica e bacteriana do PU não recoberto e concluiu que, nos testes para a bactéria *Estafilococos aureus* e *Escherichia coli*, ocorreu redução de seu crescimento, entretanto, nos experimentos com o cultivo de *Candida albicans* em PU não recoberto, não foi observado nenhuma inibição de

crescimento. Dessa forma, os filmes de TiO₂ produzidos neste trabalho, podem contribuir para o desenvolvimento de superfícies de PU com propriedades antifúngicas (XU; SIEDLECKI, 2012).

Para as amostras de PDMS, as micrografias MEV confirmam os resultados da contagem de UFCs, onde uma quantidade maior de fixação de cepas de *Candida albicans* foi observada em algumas partes da amostra TC1 e dispersão de leveduras foi observada na amostra TC4. Como observado, os resultados da contagem de UFCs e micrografias MEV, não estão de acordo com o W_{Adh} , especialmente para as amostras TC1. Portanto, pode-se concluir que o recobrimento de TiO₂ à baixa temperatura por ALD em PDMS não melhora o resultado comparado com a amostra controle, mesmo em altas espessuras de filme.

Figura 22 – Micrografias por MEV de leveduras de *Candida albicans* cultivadas nas amostras de substratos controle e substratos de PU e PDMS recobertos com TiO₂.



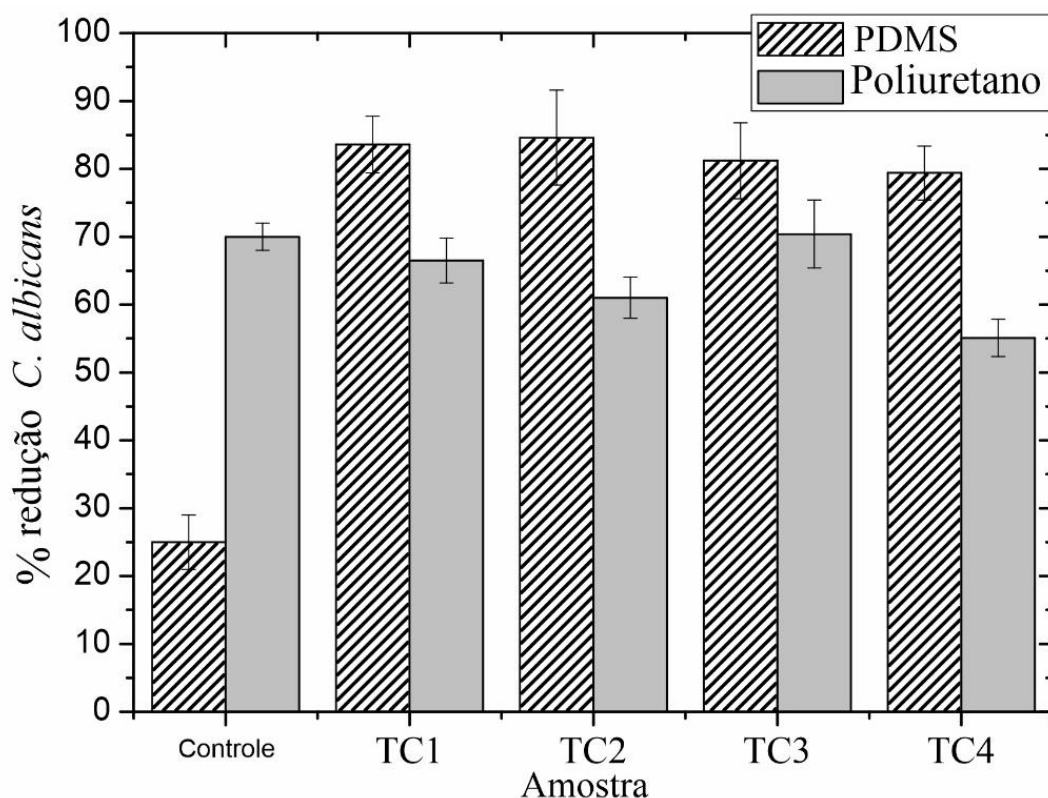
Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. Applied Surface Science, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

5.5 Análises MEV das superfícies contaminadas por *Candida albicans* após tratamento com radiação UV

A mensuração das atividades antifúngicas dos substratos TiO₂/PU e TiO₂/PDMS, foi analisada nas amostras contaminadas por *Candida albicans* após tratamento por luz UV (365nm) após o período de exposição de 1 hora. A Figura 23, mostra a redução em % de UFC para amostras controle (não recobertas) e para amostras recobertas com TiO₂ de ambos os substratos.

Em relação às amostras de PU controle, pode-se observar uma redução de UFC de aproximadamente 70% para amostra PU controle, enquanto para TiO₂ / PU a redução da % de UFCs foi menor (nas amostras TC1, TC2 e TC4), permanecendo a mesma porcentagem de PU controle (~ 70,4%, na amostra TC3). Para o caso das amostras de PDMS, a redução de UFCs foi entre 79% a 83% para amostras TiO₂/PDMS, enquanto para o controle foi de aproximadamente 25%.

Figura 23 – Porcentagem de redução das colônias de *Candida albicans* em substratos de PU e PDMS não recobertos(controle) e recobertos com TiO₂ após exposição a UV.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

As micrografias MEV representadas na Figura 24 corroboram com os resultados da Figura 23 para amostras de PU. Observa-se que após a exposição aos raios UV, as hifas formadas no controle foram destruídas e poucas leveduras podem ser vistas na superfície.

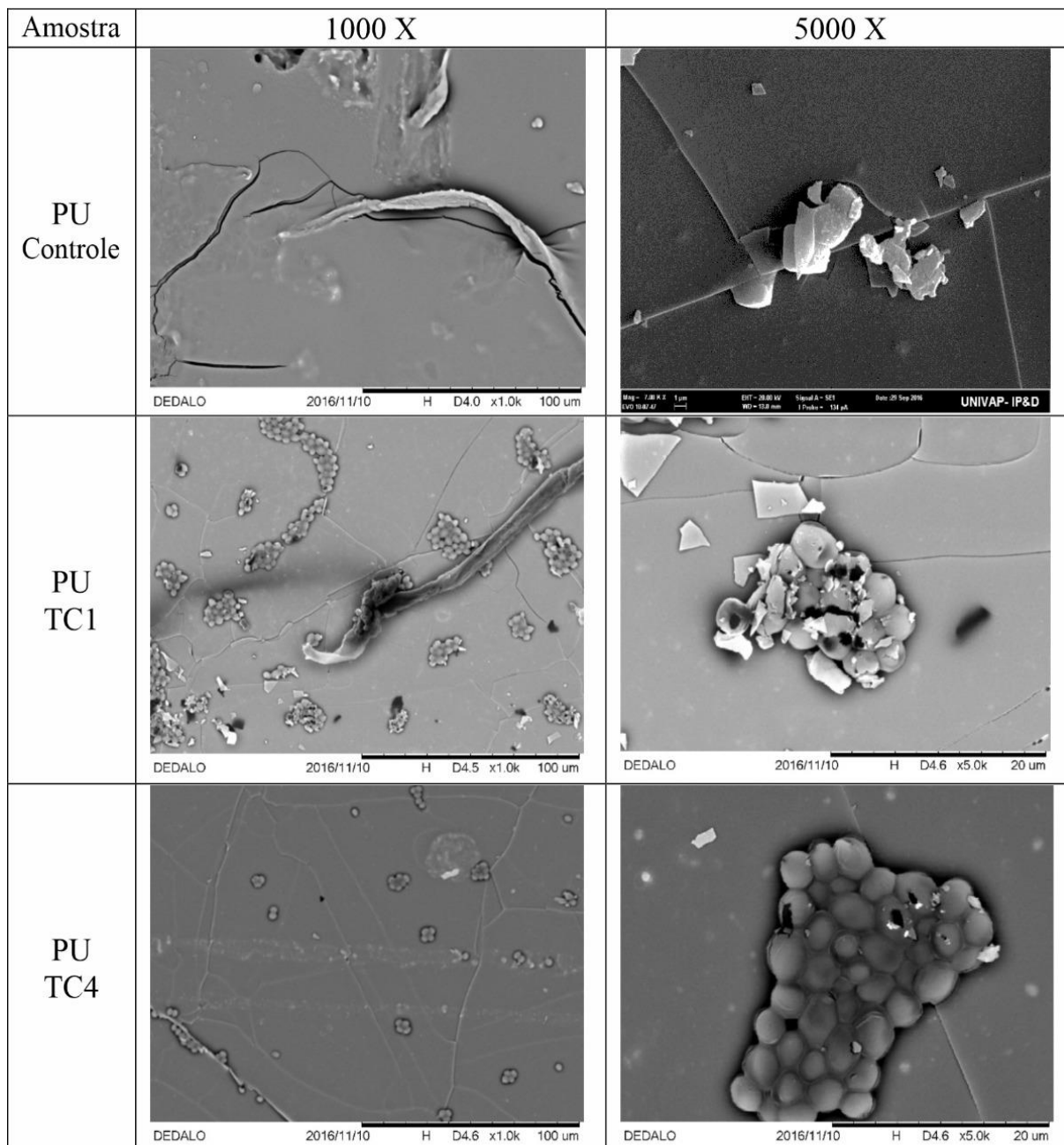
Embora uma alta densidade de levedura seja observada para a amostra tratada TC1 do PU, muitas dessas leveduras estão inativas, como ilustrado na micrografia MEV com aumento de 5K (Figura 24). É importante enfatizar, que a comparação entre as figuras 22, 24 e 25 permite verificar que a adesão da levedura de *Candida albicans* é altamente não linear nas superfícies das amostras, porém os dados da UFC fornecem uma estimativa das leveduras capazes de formar colônias na área total da amostra analisada.

Com relação à morfologia do substrato, na Figura 24 e 25, pode-se notar que a exposição aos raios UV causou a formação de rachaduras na superfície dos substratos não recobertos, provavelmente devido ao tempo da exposição utilizado neste trabalho. Esse fato promoveu o destaque do filme TiO₂ em alguns pontos dos substratos TiO₂/PU apresentados na Figura 24.

As micrografias MEV (Figura 25), confirmaram a análise de redução de UFCs (Figura 23) para amostras TiO₂/PDMS, que apresentaram uma mudança drástica na morfologia das leveduras de *Candida albicans* para a amostra TC1 e leveduras inativas com tamanho reduzido para amostras TC4, indicando a atividade fotocatalítica do filme ALD/TiO₂ à baixa temperatura em PDMS.

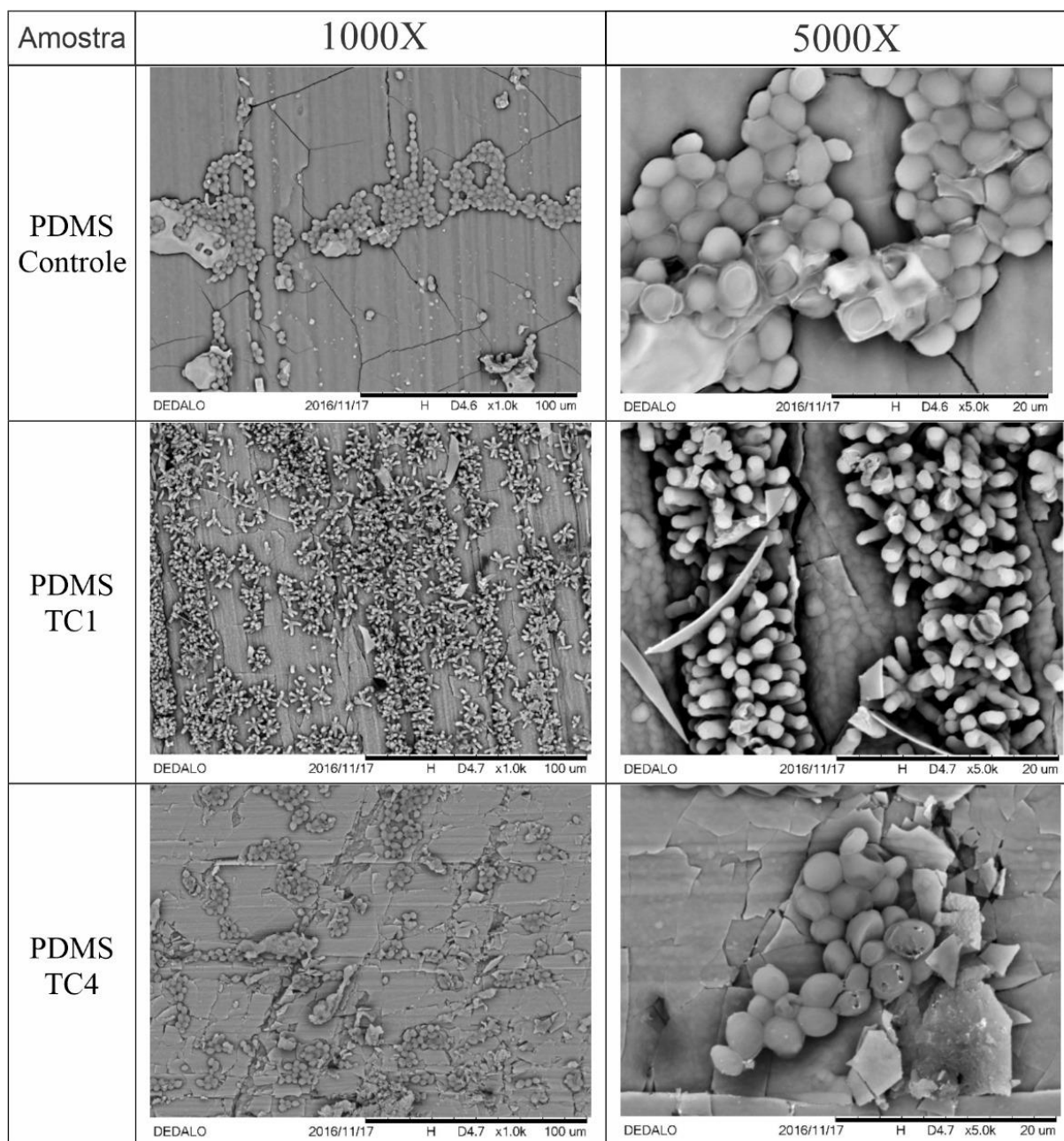
Os resultados satisfatórios foram contrários ao tipo de substrato quando comparados com ensaios de inibição de crescimento de *Candida albicans*. Pode-se deduzir que isto está relacionado à concentração de cloro nos filmes TiO₂ (Figura 18c). Observa-se que nos filmes TiO₂ cultivados em substratos de PDMS, ocorre uma maior concentração de cloro em comparação com TiO₂/PU, indicando sua possível influência nas propriedades fotocatalíticas (ou fungicidas) do TiO₂. Além disso, o comportamento da concentração de cloro em relação ao número de ciclos de reação foi seguido pela redução das colônias de *Candida albicans*. Experimentos adicionais, como o uso do azul de metileno, para filme/substrato, com a finalidade de fotodegradação, estão sendo estudados para melhor explicar os fotocomportamentos diferentes.

Figura 24 – Micrografias MEV de amostras PU (controle e recobertas com TiO₂) contaminadas por *Candida albicans* após exposição a radiação UV.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

Figura 25 – Micrografias de MEV de amostras PDMS (controle e recobertas com TiO₂) contaminadas por *Candida albicans* após exposição a radiação UV.



Fonte: Adaptação de PESSOA *et al.* (2017) a partir de PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. *Applied Surface Science*, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho de doutorado, foram obtidos filmes finos, com espessuras variadas, de TiO₂ amorfo dopados com cloro (2 a 12%) em substratos poliméricos de poliuretano (PU) e PDMS pela técnica de deposição por camada atômica (ALD).

Uma das vantagens da técnica ALD é a realização dos processos em baixas temperaturas, sendo aplicável a substratos termossensíveis. Pela análise de Termogravimetria e FTIR, foi evidenciado que os substratos de PU e PDMS apresentaram estabilidade térmica, mantendo sua integridade durante os processos ALD/TiO₂ nas condições de temperatura a 80°C aplicadas neste trabalho. Não houve mudança efetiva das ligações químicas dos substratos, apenas redução da intensidade de número de onda para os principais picos, devido ao aumento da espessura do filme.

A condição amorfa dos filmes finos de TiO₂, após a sua deposição, foi verificada pela análise de Espectroscopia Raman, devido a ausência de modificações dos principais picos comparados com a análise da estrutura de TiO₂ em fase cristalina anatase.

A análise RBS permitiu determinar a composição elementar do PU, contribuição importante para a literatura. O filme de TiO₂ crescido em PDMS teve um teor mais elevado de cloro (até 12%) em sua composição elementar, quando comparado à superfície de PU e Si (100), devido à natureza amorfa do material. A porcentagem de cloro diminuiu linearmente com o número de ciclos de reação para ambos os substratos. Foi observado um considerável crescimento por ciclo (GPC) de filme de TiO₂ depositado em PDMS.

Testes biológicos juntamente com a mensuração do ângulo de contato indicaram que os filmes de TiO₂ por ALD reduziram o crescimento da *Candida albicans* para o substrato PU, enquanto, para PDMS, um aumento foi observado em comparação ao controle. Esse fato está de acordo com os dados referentes ao trabalho de adesão (W_{Adh}), onde quanto menor o valor do ângulo de contato, mais favorável é a adesão de leveduras de *Candida albicans*.

Estas análises, confirmadas pelas medidas MEV, mostraram que o filme TiO₂ suprimiu a transição levedura-hifa da *Candida albicans* em PU. Portanto, o filme TiO₂ pode melhorar a propriedade antimicrobiana de PU mesmo sem a exposição UV, inibindo a formação da estrutura do biofilme.

Em paralelo, quando as amostras contaminadas foram tratadas por luz UV, o PDMS recoberto por TiO_2 apresentou redução de colônias de 79 a 83%, enquanto para o PU recoberto de TiO_2 , não se observou nenhuma melhora. Uma explicação possível é que, a maior concentração de cloro no TiO_2/PDMS em comparação com o TiO_2/PU , promoveu um aumento na atividade fotocatalítica.

Portanto, pode-se inferir que filmes de TiO_2 amorfo dopados com cloro, crescidos por ALD, em superfícies poliméricas biomédicas têm propriedades fungistáticas e quando irradiados com luz UV, no caso de contaminação, apresentam propriedades antifúngicas.

7 TRABALHOS FUTUROS

- Realização da deposição de filme fino de TiO_2 por ALD em condições de temperaturas mais altas ($> 80^\circ\text{C}$) para entender melhor a correlação da temperatura com a concentração de cloro;
- Análise da biocompatibilidade dos substratos PU e PDMS recobertos com TiO_2 dopados com cloro;
- Realização de estudos similares com o PVC, material utilizado com frequência em dispositivos biomédicos;
- Realização de estudos similares nos substratos de formatos tubulares semelhantes aos formatos dos dispositivos biomédicos;
- Realização de análises de processos inflamatórios do sangue sob contato com superfícies de substratos poliméricos recobertas com TiO_2 por ALD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARIK, L. *et al.* Atomic layer deposition of TiO₂ from TiCl₄ and O₃. **Thin Solid Films**, v. 542, p. 100-107, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040609013011267>. Acesso em: 29 set. 2019.
- AHMADI, A. *et al.* Invasive candidiasis in intensive care unit; consensus statement from an Iranian panel of experts, July 2013. **JRSM open**, v. 5, n. 3, p. 1-10, 2014. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2042533313517689>. Acesso em: 24 mar. 2019.
- BAGHDADI, E. *et al.* Antifungal susceptibility patterns of *Candida* species recovered from endotracheal tube in an intensive care unit. **Advances in Medicine**, v. 2016, p. 1-6, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27642628/>. Acesso em: 18 abr. 2019.
- BANERJEE, D.; CHATTOPADHYAY, K. K. Enhanced field emission properties of PECVD synthesized chlorine doped diamond like carbon thin films. **Surface & Coatings Technology**, v. 253, p. 1-7, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0257897214003843>. Acesso em: 20 mar. 2019.
- BAZAKA, K., JACOB, M. V., CRAWFORD, R. J. Efficient surface modification of biomaterial to prevent biofilm formation and the attachment of microorganisms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, p. 299-311, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22618687/>. Acesso em: 4 ago. 2019.
- BERARDO, E. **Modelling the Excited State Properties of TiO₂ Nanoparticles**. 2015. Tese (Doutorado em Física). UCL (University College London). Londres, 2015. Disponível em: <https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/1470301/>. Acesso em: jan.2017.
- BORYSIUK, M. *et al.* Hydrogen analysis and profiling with a position sensitive detector. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 306, p. 49-53, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X12008051>. Acesso em: 28 jun. 2019.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde**, Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33852/3507912/Caderno+4+-+Medidas+de+Preven%C3%A7%C3%A3o+de+Infec%C3%A7%C3%A3o+Relacionada+%C3%A0+Assist%C3%Aancia+%C3%A0+Sa%C3%BAde/a3f23dfb-2c54-4e64-881c-fccf9220c373>. Acesso em: 29 set. 2019.
- BRUNI, S. *et al.* IR and NMR study of nanoparticle-support interactions in a Fe₂O₃-SiO₂ nanocomposite prepared by a Sol-gel method. **Nanostructured Materials**, v. 11, n. 5, p. 573-586, 1999. Disponível em: Acesso em: 30 mar. 2019.

BRZESKA, J. Synthesis and Properties of Polyurethanes Based on Synthetic Polyhydroxybutyrate for Medical Application. **Thermoplastic Elastomers - Synthesis and Applications**, p. 1-24, 2015. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/thermoplastic-elastomers-synthesis-and-applications/synthesis-and-properties-of-polyurethanes-based-on-synthetic-polyhydroxybutyrate-for-medical-applica>. Acesso em: 4 ago. 2019.

BUSSCHER, H. J. *et al.* Biomaterial-associated infection: Locating the finish line in the race for the surface. **Science Translational Medicine**, v. 4, n. 153, 2012. Disponível em: <https://stm.sciencemag.org/content/4/153/153rv10.full>. Acesso em: 24 mar. 2019.

CAMINO, G.; LOMAKIN, S. M.; LAZZARI, M. Polydimethylsiloxane thermal degradation Part 1: Kinetic aspects. **Polymer**, v. 42, p. 2395-2402, 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032386100006522>. Acesso em: 24 out. 2019.

CAMINO, G.; LOMAKIN, S. M.; LAGEARD, M. Thermal polydimethylsiloxane degradation. Part 2: The degradation mechanisms. **Polymer**, v. 43, p. 2011-2015, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0032386101007856>. Acesso em: 24 set. 2019.

CHARPENTIER, P. A. *et al.* Nano-TiO₂/polyurethane composites for antibacterial and self-cleaning coatings. **Nanotechnology**, v. 23, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23037881/>. Acesso em: 4 ago. 2019.

CHEN, C. Y. *et al.* Clinical characteristics of candidaemia in adults with haematological malignancy, and antimicrobial susceptibilities of the isolates at a medical centre in Taiwan, 2001-2010. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, n. 6, p. 533-538, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23006521/>. Acesso em: 24 nov. 2019.

CHIAPPIM, W. *et al.* Effect of process temperature and reaction cycle number on atomic layer deposition of TiO₂ thin films using TiCl₄ and H₂O precursors: correlation between material properties and process environment. **Brazilian Journal of Physics**, v. 46, n. 1, p. 56-69, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13538-015-0383-2>. Acesso em: 24 mar. 2019.

CHIN, V. K. *et al.* Dissecting *candida albicans* infection from the perspective of c. Albicans virulence and omics approaches on host-pathogen interaction: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 10, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27763544/>. Acesso em: 4 ago. 2019.

DEL POZO, J. L. Biofilm-related disease. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 16, ed. 1, p. 51-65, jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29235402>. Acesso em: 18 out. 2019.

DOZZI, M. V.; SELLI, E. Doping TiO₂ with p-block elements: effects on photocatalytic activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 14, n. 1, p. 13-28, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389556712000640>. Acesso em: 24 mar. 2019.

DVORAK, F. *et al.* One-dimensional anodic TiO₂ nanotubes coated by atomic layer deposition: towards advanced applications. **Applied Materials Today**, v. 14, p. 1-20, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352940718305341>. Acesso em: 21 dez. 2019.

ELAM, J. W. *et al.* Improved nucleation of TiN atomic layer deposition films on SiLK low-k polymer dielectric using an Al₂O₃ atomic layer deposition adhesion layer. **Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures Processing, Measurement, and Phenomena**, v. 21, n. 3, p. 1099-1107, 2003. Disponível em: <https://avs.scitation.org/doi/abs/10.1116/1.1577568>. Acesso em: 12 mar 2016.

FATHI, N. *et al.* Sequence-identification of *Candida* species isolated from candidemia. **Advanced Biomedical Research**, v. 5, n. 1, p. 150, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5046752/>. Acesso em: 3 mar. 2019.

FELTRIN, J. *et al.* Superfícies fotocatalíticas de titânia em substratos cerâmicos: Parte I: Síntese, estrutura e fotoatividade. **Cerâmica**, São Paulo, v. 59, n. 352, p. 620-632, Dec. 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-69132013000400020&lng=en&nrm=iso. Acesso em: dez 2019.

FERNANDES, J. A. L. *et al.* Evolution and application of Inteins in *Candida* species: a review. **Frontiers in Microbiology**. Lausanne, v. 7, p. 1-5, oct. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5056185/>. Acesso em: 10 maio 2019.

FUARD, D. *et al.* Optimization of poly-di-methyl-siloxane (PDMS) substrates for studying cellular adhesion and motility. **Microelectronic Engineering**, v. 85, n. 5-6, p. 1289-1293, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167931708001196>. Acesso em: 4 ago. 2019.

FUJISHIMA, Akira; HONDA, Kenichi. Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. **nature**, v. 238, n. 5358, p. 37-38, 1972. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/238037a0>. Acesso em: 02 fev. 2018.

GAGE, J. P. **The use of photocatalytic thin films to control biofilm growth**. 2002. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Montana State University, Bozeman, Montana, 2002. Disponível em: <https://scholarworks.montana.edu/xmlui/bitstream/handle/1/8269/31762103712624.pdf?sequence=1>. Acesso em: 24 jul. 2019.

GALLIENI, M.; PITTIRUTI, M.; BIFFI, R. Vascular access in oncology patients. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 58, n. 6, p. 323-346, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18971486/>. Acesso em: 24 mar. 2019.

GIRELLI, K. M.; BENEDETTI, V. P. Perfil de sensibilidade de *Candida albicans* frente ao fluconazol isolados de diferentes sítios anatômicos. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 22, n. 3, p. 169-173, set./dez. 2018. Disponível em: <https://www.revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/6498/3673>. Acesso em: 17 mar. 2019.

GODDARD, J.; HOTCHKISS, J. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds. **Progress in Polymer Science**, v. 32, p. 698-725, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670007000512>. Acesso em: 24 mar. 2019.

GUN'KO, V. M. *et al.* Polydimethylsiloxane at the interfaces of fumed silica and zirconia/fumed sílica. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 17, p. 7143-7156, 2007. Disponível em: <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2007ApSS..253.7143G/abstract>. Acesso em: 12 dez. 2018.

GUPTA, S. M.; TRIPATHI, M. A review of TiO₂ nanoparticles. **Chinese Science Bulletin**, v. 56, n. 1639, p. 1639-1657, 2011. Disponível em: Acesso em: 20 jul. 2019.

GUO, H. C. *et al.* Recent progress of atomic layer deposition on polymeric materials. **Materials Science and Engineering C**, v. 70, p. 1182-1191, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928493116300935>. Acesso em: 4 ago. 2019.

HANAOR, D. A. H.; TRIANI, G.; SORRELL, C. C. Morphology and photocatalytic activity of highly oriented mixed phase titanium dioxide thin films. **Surface and Coatings Technology**, v. 205, n. 12, p. 3658-3664, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0257897211000193>. Acesso em: 24 mar. 2019.

HASHIMOTO, K.; IRIE, H.; FUJISHIMA, A. TiO₂ photocatalysis: a historical overview and future prospects. **Japanese Journal of Applied Physics, Part 1: Regular Papers and Short Notes and Review Papers**, v. 44, n. 12, p. 8269-8285, 2005. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1143/JJAP.44.8269/meta>. Acesso em: 11 mar. 2019.

HEILMAN, Sonia. **Efeito da radiação ionizante nos revestimentos de cateteres de poliuretano com nanopartículas de prata**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: http://pelicano.ipen.br/PosG30/TextoCompleto/Sonia%20Heilman_D.pdf. Acesso em fev. 2019.

HUANG, J. *et al.* The photocatalytic properties of amorphous TiO₂ composite films deposited by magnetron sputtering. **Research on Chemical Intermediates**, v. 38, n. 2, p. 487-498, 2012. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/257658442_The_photocatalytic_properties_of_amorphous_TiO2_composite_films_deposited_by_magnetron_sputtering.

Acesso em: 24 mar. 2019.

HUSZANK, R. *et al.* 4He⁺ ion beam irradiation induced modification of poly(dimethylsiloxane): characterization by infrared spectroscopy and ion beam analytical techniques. **Langmuir**, v. 27, n. 7, p. 3842-3848, 2011. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21401060/>. Acesso em: 4 ago. 2019.

KALERED, E. *et al.* Adsorption and surface diffusion of silicon growth species in silicon carbide chemical vapour deposition processes studied by quantum-chemical computations. **Theoretical Chemistry Accounts**, v. 132, n. 12, p. 1-10, 2013.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00214-013-1403-3>. Acesso em: 17 jun. 2019.

KAUR, K.; SINGH, C. V. Amorphous TiO₂ as a photocatalyst for hydrogen production: A DFT study of structural and electronic properties. **Energy Procedia**, v. 29, p. 291-299, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876610212014555>. Acesso em: 24 mar. 2019.

KAVALIUNAS, V. *et al.* Influence of Mg, Cu, and Ni Dopants on Amorphous TiO₂ Thin Films Photocatalytic Activity. **Materials**, v. 13, n. 4, p. 886, 17 de fevereiro de 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/13/4/886>.

Acesso em: abr. 2020.

KNETSCH, M. L. W.; KOOLE, L. H. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. **Polymers**, v.3. p. 340-366, 2011. Disponível em:

<https://www.mendeley.com/catalogue/e8569452-ccfe-3575-9e2a-1e65f37f28be/>.

Acesso em: 24 mar. 2019.

KONG, X.; NARINE, S. S. Physical properties of polyurethane plastic sheets produced from polyols from canola oil. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 7, p. 2203-2209, 2007. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/6286924_Physical_Properties_of_Polyurethane_Plastic_Sheets_Produced_from_Polyols_from_Canola_Oil. Acesso em: 4 ago. 2019.

LANDMANN, M., RAULS, E., SCHMIDT, W. The electronic structure and optical response of rutile, anatase and brookite tio₂. **Journal of physics: condensed matter**, v. 24, n.19, p. 195-503, 2012. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22517072/>. Acesso em: dez 2018.

LARENA-AVELLANEDA, A. *et al.* Silicone-Based Vascular Prosthesis: Assessment of the Mechanical Properties. **Annals of Vascular Surgery**, v. 22, n. 1, p. 106-114,

2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18083333/>. Acesso em: 18 abr. 2019.

LEE, C. S. *et al.* Photocatalytic functional coatings of TiO₂ thin films on polymer substrate by plasma enhanced atomic layer deposition. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 91, n. 3-4, p. 628-633, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926337309002720>. Acesso em: 24 mar. 2019.

LEE, J. P.; JANG, Y. J., SUNG, M. M. Atomic layer deposition of TiO₂ thin films on mixed self-assembled monolayers studied as a function of surface free energy. **Advanced Functional Materials**, v. 13, n. 11, p. 873-876, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/230104473_Atomic_Layer_Deposition_of_TiO2_Thin_Films_on_Mixed_Self-Assembled_Monolayers_Studied_as_a_Function_of_Surface_Free_Energy. Acesso em: 24 mar. 2019.

LEEM, J. *et al.* Role of HCl in atomic layer deposition of TiO₂ thin films from titanium tetrachloride and water. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 35, n. 4, p. 1195-1201, 2014. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/0725/d86fd03640ab4752569937e04d8d2c951a86.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2019.

LOHSE, M.B. *et al.* Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. **Nature Reviews. Microbiology**. V. 16, ed 1, p. 19-31, jan. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5726514>. Acesso em: 17 nov. 2018.

LUCCHESI, E. G.; MORAES, Ã. M.; EGUCHI, S. Y. **Influência de diferentes materiais na formação e susceptibilidade de biofilmes a agentes antimicrobianos**. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas-SP, 2012. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/266798/1/Lucchesi_ElianeGama_D.pdf. Acesso em: 8 jul. 2019.

LYNCH, A. S.; ROBERTSON, G. T. Bacterial and fungal biofilm infections. **Annual Review of Medicine**, v. 59, p. 415-428, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17937586/>. Acesso em: 24 mar. 2019.

MAGALHÃES, Y. C. *et al.* Clinical significance of the isolation of *Candida* species from hospitalized patients. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 117-123, 2015. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822015000100117. Acesso em: 20 jul. 2019.

MAYER, M. SIMNRA, a simulation program for the analysis of NRA, RBS and ERDA. American Institute of Physics Conference Proceedings. **Anais [...]**, v. 475, p. 541-544, 1999. Disponível em: [https://home.mpcdf.mpg.de/~mam/Mayer-AIP-Conference-Proceedings-475-\(1999\)-541.pdf](https://home.mpcdf.mpg.de/~mam/Mayer-AIP-Conference-Proceedings-475-(1999)-541.pdf). Acesso em: 12 jan. 2019.

MINGCE, L. *et al.* Preparation, characterization and photocatalytic activity of visible light driven chlorine-doped TiO₂. **Frontiers of Chemistry in China**, v. 2, n. 3, p. 278-282, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11458-007-0050-4>. Acesso em: 24 mar. 2019.

NAKAMURA, M. *et al.* Role of terminal OH groups on the electrical and hydrophilic properties of hydro-oxygenated amorphous TiOx: OH thin films. **Journal of Applied Physics**, v. 90, n. 7, p. 3391-3395, 2001. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/235606194_Role_of_terminal_OH_groups_on_the_electrical_and_hydrophilic_properties_of_hydro-oxygenated_amorphous_TiOx_OH_thin_films. Acesso em: 27 jun. 2019.

NAKATA, Kazuya; FUJISHIMA, Akira. TiO₂ photocatalysis: Design and applications. **Journal of photochemistry and photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 13, n. 3, p. 169-189, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1389556712000421>. Acesso em: 28 mar. 2018.

NASCIMENTO, I. R. *et al.* Biofilmes bacterianos: colonização e identificação de micro-organismos causadores de infecção em cateter venoso central. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa 2.1**, 2018. Disponível em: <https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/pic/article/view/5586>. Acesso em: 5 mar. 2019.

NOBILE, C. J.; JOHNSON, A. D. *Candida albicans* biofilms and human disease. **Annual Review of Microbiology**, v. 69, p. 71-92, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4930275/>. Acesso em: 27 jun. 2019.

NUCCI, M. *et al.* Early removal of central venous catheter in patients with candidemia does not improve outcome: analysis of 842 patients from 2 randomized clinical trials. **Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 51, n. 3, p. 295-303, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/51/3/295/307368>. Acesso em: 24 mar. 2019.

PAIS, P. *et al.* Transcriptional control of drug resistance, virulence and immune system evasion in pathogenic fungi: a cross-species comparison. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. OCT, 2016. Disponível em: <https://www.readcube.com/articles/10.3389/fcimb.2016.00131>. Acesso em: 27 jun. 2019.

PAPPAS, P. G. *et al.* Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the infectious diseases society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 5, p. 503-535, 2009. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/48/5/503/382619>. Acesso em: 13 mar. 2019.

PARSONS, G. N. Atomic layer deposition on soft materials. *In*: PINNA, Nicola; KNEZ, M. (ed.). **Atomic Layer Deposition of Nanostructured Materials**, Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011, p. 271-300. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9783527639915.ch12>. Acesso em: 17 maio. 2019.

PARSONS, G.N. *et al.* Mecanismos e reações durante a deposição da camada atômica em polímeros. **Revisões de Coordenação Química**, v. 257, n. 23-24, p. 3323-3331, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0010854513001410> Acesso em: jan 2017.

PESSOA, R. S. *et al.* Nanostructured thin films based on TiO₂ and/or SiC for use in photoelectrochemical cells: A review of the material characteristics, synthesis and recent applications. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 29, p. 56-68, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369800114003138>. Acesso em: 22 set. 2019.

PESSOA, R. S. *et al.* TiO₂ coatings via atomic layer deposition on polyurethane and polydimethylsiloxane substrates: Properties and effects on *C. albicans* growth and inactivation process. **Applied Surface Science**, v. 422, p. 73-84, 15 nov. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433217316331>. Acesso em: 11 abr. 2019.

PESSOA, R. S.; FRAGA, M. A. Biomedical applications of ultrathin atomic layer deposited metal oxide films on polymeric materials. **Frontiers of nanoscience**, v. 14, p. 291-307, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081025727000118?via%3Dihub>. Acesso em: 17 dez. 2019.

PFEIFFER *et al.* Revestimentos antirreflexo para lentes de vidro fortemente curvadas por deposição de camada atômica. **Revestimentos**, v. 7, n. 8, p. 118, ago 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6412/7/8/118>. Acesso em: 12 fev. 2018.

RAMAGE, G. *et al.* Fungal biofilm resistance. **International journal of microbiology**, v. 2012, 2012. Disponível em: <http://downloads.hindawi.com/journals/ijmb/2012/528521.pdf>. Acesso em: abr 2018.

RITALA, M. *et al.* Development of crystallinity and morphology in hafnium dioxide thin films grown by atomic layer epitaxy. **Thin Solid Films**, v. 250, n. 1-2, p. 72-80, Oct. 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0040609094901686>. Acesso em: 12 dez. 2019.

ROCHFORD, E. T. J.; RICHARDS, R. G.; MORIARTY, T. F. Influence of material on the development of device-associated infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 12, p. 1162-1167, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22925523/>. Acesso em: 4 mar. 2019.

RUHNKE, M. *et al.* Anidulafungin for the treatment of candidaemia/invasive candidiasis in selected critically ill patients. **Clinical Microbiology and Infection**, v.

18, n. 7, p. 680-687, 2012. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3510306/>. Acesso em: 12 dez. 2019.

SASSAKI NETO, P. I. **Estudo experimental comparativo de remendos arteriais de polidimetilsiloxano com reforço de tecido de poliéster (PDMSr) versus politetrafluoretileno expandido (PTFEe) em aorta de coelhos**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Clínica Cirúrgica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em:
<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5132/tde-09012015-161145/publico/PaulolsaoSasakiNeto.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2019.

SCHNEIDER, R. P. Conditioning film-induced modification of substratum physicochemistry: analysis by contact angles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 182, p. 204-213, 1996. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002197979690452X>. Acesso em: 2 mar. 2019.

SCUDERI, V. *et al.* Photocatalytic and antibacterial properties of titanium dioxide flat film. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 42, p. 32-35, 2016. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369800115301827>. Acesso em: 24 set. 2019.

SILVA, S. *et al.* Silicone colonization by non-*Candida albicans* *Candida* species in the presence of urine. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, p. 747-754, 2010. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/42345091_Silicone_colonization_by_non-Candida_albicans_Candida_species_in_the_presence_of_urine. Acesso em: 9 ago. 2019.

SOUSA, C.; TEIXEIRA, P.; OLIVEIRA, R. Influence of Surface Properties on the Adhesion of Staphylococcus epidermidis to Acrylic and Silicone. **International Journal of Biomaterials**, v. 2009, p. 1-9, 2009. Disponível em:
<https://www.hindawi.com/journals/ijbm/2009/718017/>. Acesso em: 31 mar. 2019.

SPAGNOLA, J. C.; GONG, B.; PARSONS, G. N. Surface texture and wetting stability of polydimethylsiloxane coated with aluminum oxide at low temperature by atomic layer deposition. **Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films**, v. 28, n. 6, p. 1330-1337, 2010. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/260308935_Surface_texture_and_wetting_stability_of_polydimethylsiloxane_coated_with_aluminum_oxide_at_low_temperature_by_atomic_layer_deposition. Acesso em: 24 mar. 2019.

STORTI, A. **Colonização de cateteres venosos Centrais por biofilme microbiano**. 2006. Tese (Doutorado em Análises Clínicas) – Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, campus de Araraquara – UNESP, São Paulo, 2006. Disponível em:
https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/103990/storti_a_dr_arafcf.pdf;jsessionid=790FE2599895818718DA85B06A5E0842?sequence=1. Acesso em: 23 out. 2019.

SUBRAMANIAN, Ashwanth; TIWALE, Nikhil; NAM, Chang-Yong. Review of recent advances in applications of vapor-phase material infiltration based on atomic layer deposition. *Jom*, v. 71, n. 1, p. 185-196, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11837-018-3141-4.pdf>. Acesso em: jan 2020.

SUNADA, K.; WATANABE, T.; HASHIMOTO, K. Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 156, n. 1-3, p. 227-233, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1010603002004343>. Acesso em: 12 mar. 2019.

STASZUK, M. Application of PVD and ALD Methods for Surface Treatment of Al-Si-Cu Alloys. **Solid State Phenomena**, v. 293. Trans Tech Publications, Ltd., p. 97-109. July 2019. Disponível em: <https://www.scientific.net/SSP.293.97>. Acesso em: mai 2017.

TAEWOOK, N. *et al.* Low-temperature atomic layer deposition of TiO₂, Al₂O₃, and ZnO thin films. **Journal of the Korean Physical Society**, v. 59, n. p. 452-457, 2011. Disponível em: <file:///C:/Users/user/Downloads/JP-59-21-452.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2019.

TARRE, A. *et al.* Atomic layer deposition of Cr₂O₃ thin films: Effect of crystallization on growth and properties. **Applied Surface Science**, v. 254, n. 16, p. 5149-5156, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169433208002675>. Acesso em: 18 mar. 2019.

TATLIDIL, I. *et al.* Degradation of *Candida albicans* on TiO₂ and Ag-TiO₂ thin films prepared by sol-gel and nanosuspensions. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 23-32, Oct. 2011. Disponível em: <https://www.springerprofessional.de/en/degradation-of-candida-albicans-on-tio2-and-ag-tio2-thin-films-p/11739142>. Acesso em: 24 set. 2019.

TAVARES, M. T. S. *et al.* TiO₂/PDMS nanocomposites for use on self-cleaning surfaces. **Surface and Coatings Technology**, v. 239, p. 16-19, 2014. Disponível em: <http://cdmf.org.br/wp-content/uploads/2017/03/TiO2-PDMS-nanocomposites-for-use-on-self-cleaning-surfaces.pdf>. Acesso em: 2 nov. 2019.

TESTONI, G. E. *et al.* Influence of the Al₂O₃ partial monolayer number on the crystallization mechanism of TiO₂ in ALD TiO₂/Al₂O₃ nanolaminates and its impact on the material properties. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 49, n. 37, 2016. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0022-3727/49/37/375301/meta>. Acesso em: 13 jun. 2019.

THOMPSON, D. S.; CARLISLE, P. L.; KADOSH, D. Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. **Eukaryotic Cell**, v. 10, n. 9, p. 1173-1182, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3187052/>. Acesso em: 24 mar. 2018.

TOUIL, H. F. Z.; BOUCHERIT-OTMANI, Z.; BOUCHERIT, K. In vitro activity of antifungal combinations against planktonic and sessile cells of *Candida albicans* isolated from medical devices in an intensive care department. **Journal de Mycologie Medicale**, v. 28, n. 3, p. 414-418, 2018. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/30032993>. Acesso em: 03 maio 2019.

TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 14, n. 22, p. 113-238, jul./dez. 2013. Disponível em: <file:///C:/Users/user/Downloads/229-447-1-SM.pdf>. Acesso em: 7 maio 2019.

TRETER, J., MACEDO, A. J. Catheters: a suitable surface for biofilm formation. In: MENDEZ-VILAS, A. (Ed.) **Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances**. Badajoz: Formatex, 2011, p. 835-842. Disponível em: file:///C:/Users/user/Downloads/Catheters_A_suitable_surface_for_biofilm_formation.pdf. Acesso em: 18 jun. 2019.

VAN DER VALK, P. *et al.* Interaction of fibroblasts and polymer surfaces: relationship between surface free energy and fibroblast spreading. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 17, n. 5, p. 807-817, Sept. 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6619177/>. Acesso em: 24 jul. 2019.

VASCONCELOS, D. C. L. *et al.* Infrared spectroscopy of titania sol-gel coatings on 316l stainless steel. **Materials Sciences and Applications**, v. 2, p. 1375-1382, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/276488939_Infrared_Spectroscopy_of_Titania_Sol-Gel_Coatings_on_316L_Stainless_Steel. Acesso em: 24 mar. 2019.

VASCONCELOS, L. C. *et al.* Cell viability of *Candida albicans* against the antifungal activity of thymol. **Brazilian Dental Journal**, v. 25, n. 4, p. 277-281, 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402014000400277. Acesso em: 25 abr. 2019.

WANG, Yong *et al.* Nanoscopic morphologies in block copolymer nanorods as templates for atomic-layer deposition of semiconductors. **Advanced Materials**, v. 21, n. 27, p. 2763-2766, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.200900136> Acesso em jan 2020

WANG, Yu-Hsiang *et al.* A Review on the Pathways of the Improved Structural Characteristics and Photocatalytic Performance of Titanium Dioxide (TiO₂) Thin Films Fabricated by the Magnetron-Sputtering Technique. **Catalysts**, v. 10, n. 6, p. 598, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4344/10/6/598> Acesso em: jul 2020.

WIEBECK, H.; HARADA, J. **Plásticos de engenharia**. São Paulo: Artliber Editora. 2005. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/5825458/plasticos-de-engenharia-helio-wiebeck-julio-harada>. Acesso em: 24 mar. 2019.

WOLFRUM, E. J. *et al.* Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces. **Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 15, p. 3412-3419, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12188373/>. Acesso em: 28 dez. 2019.

XU, L. C.; SIEDLECKI, C. A. Submicron-textured biomaterial surface reduces staphylococcal bacterial adhesion and biofilm formation. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 1, p. 72-81, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706111003539>. Acesso em: 26 jan. 2019.

ZALESKA, A. Doped- TiO₂: A Review. **Recent Patents on Engineering**, v. 2, n. 3, p. 157-164, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/230718297_Doped-TiO2_a_review. Acesso em: 24 mar. 2019.

ZAVASTIN, D. *et al.* Preparation, characterization and applicability of cellulose acetate–polyurethane blend membrane in separation techniques. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 370, n. 1-3, p. 120-128, Nov. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927775710005030>. Acesso em: 24 mar. 2019.

ZEITLER, V. A.; BROWN, C. A. The infrared spectra of some Ti-O-Si, Ti-O-Ti and Si-O-Si compounds. **Journal of Physical and Chemical**, v. 61, n. 9, p. 1174-1177, 1957. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j150555a010>. Acesso em: 24 mar. 2019.