



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

THAISA DOS SANTOS CALDEIRA

**Ensaio sobre Agentes Potencialmente
Antimicrobianos em Cateter**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina de São
José do Rio Preto para
obtenção do Título de Mestre
no Curso de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde. Eixo
temático: Medicina e Ciências
Correlatas.

São José do Rio Preto
2023

THAISA DOS SANTOS CALDEIRA

Ensaio sobre Agentes Potencialmente
Antimicrobianos em Cateter

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina de São
José do Rio Preto para obtenção
do Título de Mestre no Curso de
Pós-Graduação em Ciências da
Saúde. Eixo temático: Medicina
e Ciências Correlatas.

Orientadora: Profa. Dra. Margarete Teresa Gottardo
de Almeida

São José do Rio Preto
2023

Caldeira, Thaisa dos Santos

Ensaio sobre Agentes Potencialmente Antimicrobianos em Cateter

/ Thaisa dos Santos Caldeira

São José do Rio Preto, 2023

52 p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP.

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientadora: Profa. Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida

1. Cateter; 2. Revestimento com Agentes Antimicrobianos; 3. Nanotecnologia; 4. Crescimento Bacteriano e Fúngico; 5. Redução de Infecções.

THAISA DOS SANTOS CALDEIRA

Ensaio sobre Agentes Potencialmente
Antimicrobianos em Cateter

BANCA EXAMINADORA
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE

Presidente e Orientadora: Prof. Dra. Margarete
Teresa Gottardo de Almeida

2º Examinador: Profa. Dra. Mariela Domiciano
Ribeiro Marques

3º Examinador: Profa. Dra. Natália Martin

Suplente: Profa. Dra. Elza Maria Castilho

Suplente: Profa. Dra. Márcia Maria Costa Nunes
Soares

São José do Rio Preto, 29 / 03 / 2023.

SUMÁRIO

Dedicatória	i
Agradecimentos.....	ii
Epígrafe	iv
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas e Quadros	vi
Lista de Abreviaturas e Símbolos	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO	1
1. Introdução.....	2
1.1 Objetivo Geral	8
1.2 Objetivos Específicos	8
MATERIAL E MÉTODO	9
2. Material e Método	10
2.1 Aspectos Éticos da Pesquisa	10
2.2 Corpos de Prova e Forma de Avaliação do Crescimento.....	10
2.2.1 Corpos de Prova do Primeiro Experimento – Cateteres de Silicone	11
2.2.1.1 Procedimentos do Primeiro Experimento	12

2.2.2	Corpos de Prova do Segundo Experimento – Disco de Aço	16
2.2.2.1	Procedimento do Segundo Experimento	17
2.2.3	Corpos de Prova do Terceiro Experimento – Disco de Aço	21
2.2.3.1	Procedimento do Terceiro Experimento	21
2.2.4	Corpos de Prova do Quarto Experimento – Disco de Aço	23
2.2.4.1	Procedimento do Quarto Experimento	24
RESUTADOS		29
3 Resultados		30
3.1 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Primeiro Experimento		30
3.2 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Segundo Experimento		31
3.3 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Terceiro Experimento		32
3.4 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Quarto Experimento		33
DISCUSSÃO		36
4 Discussão		37
CONCLUSÕES		43
5 Conclusões		44

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
6 Referências Bibliográficas.....	46

Dedicatória

À minha família – meu pai, minha mãe, minha irmã e meu noivo, que sempre me incentivaram a ir atrás dos meus sonhos.

Agradecimentos

A Deus, por sempre guiar meu caminho e me dar forças para nunca desistir dos meus sonhos;

Aos meus pais Edison e Lourdes, a quem devo todas as minhas conquistas – agradeço por sempre investirem em mim, confiarem em meu potencial e me incentivarem a seguir em frente apesar de todas as dificuldades passadas durante os anos;

À minha irmã Karoline, minha parceira, companheira e torcida constante em todas as etapas da minha vida;

Ao meu noivo Igor, por toda ajuda e apoio dado, pelo companheirismo e compreensão;

À minha querida orientadora Prof. Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida, que me inspirou na trajetória acadêmica desde a especialização, sempre contribuindo em minha formação profissional e pessoal. Agradeço por todos os conselhos dados e por sua amizade, mas principalmente por sua paciência em entender minha rotina/correria diária;

À adorável Dra. Gabriela Byzynski, que me ajudou de diversas formas, até mesmo cedendo sua empresa para que nossas reuniões fossem feitas com sucesso. Agradeço por ser essa pessoa tão querida;

Ao meu local de trabalho, Laboratório Laborclin e seus diretores, por me disponibilizar todo o tempo necessário para que eu pudesse proceder com minha pós, meus estudos, aulas e experimentos;

Aos meus parceiros Natalia Seron e João Paulo Zen, por darem toda a assistência necessária em meus experimentos, sempre com muita paciência;

Às Profas. Dras. Cátia Rezende, Elza Maria Castilho e ao Dr. João Paulo Zen Siqueira, pela participação em minha banca de qualificação, na qual me ajudou muito a melhorar meu trabalho com suas sugestões;

A toda a equipe do Laboratório de Microbiologia da FAMERP, que me acolheu em seu laboratório e em sua rotina com muito carinho, sempre me dando um norte;

Ao parceiro Bruno Lima da UFSCAR, que mesmo distante teve grande importância em meu trabalho, sintetizando todos os protótipos para os experimentos com maestria;

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente nesta etapa da minha vida, que foi meu Mestrado.

Minha sincera e eterna gratidão!

Epígrafe

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta, muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito

amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira, você chega lá”.

Ayrton Senna

Lista de Figuras

INTRODUÇÃO

Figura 1	–	Representação de acesso venoso periférico.....	3
Figura 2	–	Representação de acesso venoso central.....	4
Figura 3	–	Cinco estágios para o desenvolvimento de biofilme.....	5

MATERIAL E MÉTODO

Figura 4	–	<i>Candida albicans</i> em contato com os cinco corpos de prova.....	13
Figura 5	–	<i>Candida parapsilosis</i> em contato com os cinco corpos de prova.....	13
Figura 6	–	<i>Klebsiella pneumoniae</i> em contato com os cinco corpos de prova.....	14
Figura 7	–	<i>Escherichia coli</i> em contato com os cinco corpos de prova.....	14
Figura 8	–	<i>Staphylococcus aureus</i> em contato com os cinco corpos de prova.....	15

Figura 9	–	Método semiquantitativo de Maki.....	15
Figura 10	–	Microrganismo em escala 0,5 de Mc Farland.....	18
Figura 11	–	Identificação do local dos corpos de provas nas placas de Petri.....	18
Figura 12	–	Corpos de provas inseridos em suas posições nas placas de Petri.....	19
Figura 13	–	Placas de Petri contendo os corpos de prova em esterilização.....	19
Figura 14	–	Exemplo de inóculo em cima do corpo de prova.....	20
Figura 15	–	Placas incubadas dentro da câmara de fluxo laminar, com corpos de prova em contato com o ágar.....	20
Figura 16	–	Identificação da placa de Petri (Tampa e Placa).....	22
Figura 17	–	Semeadura em placa com corpo de prova.....	23
Figura 18	–	Representação das placas de Elisa (Luz e sem Luz).....	25
Figura 19	–	Representação das placas de Elisa descoberta (Luz) e coberta (Sem Luz)....	26

Figura 20 – Momento de transferência da placa de Elisa para frascos de vidro.....26

Figura 21 – Semeadura com alça de Drigalski.....27

Figura 22 – Representação da placa de Petri fracionada.....28

Lista de Tabelas e Quadros

RESULTADOS

Tabela 1 – Resultados obtidos no Primeiro Experimento em Cateter de Silicone.....30

Tabela 2 – Resultados obtidos no Segundo Experimento em Disco de Aço.....31

Tabela 3 – Resultados obtidos no Terceiro Experimento em Disco de Aço.....33

Tabela 4 – Resultados obtidos no Quarto Experimento em Disco de Aço.....34

Tabela 5 – Compostos testados com ação antimicrobiana confirmada para espécies avaliadas.....35

Lista de Abreviaturas e Símbolos

ABREVIATURAS

Ag	Prata
BHI	Brain Heart Infusion
CA	<i>Candida albicans</i>
CP	<i>Candida parapsilosis</i>
FAMERP	Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Fe ₃ O ₄	Óxido de Ferro
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
KP/KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LTDA	Limitada
PPM	Parte por Milhão
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SP	São Paulo
THF	Tetraidrofurano
TiO ₂	Dióxido de Titânio
TTC	2,3,5 - Trifeniltetrazólio
UFSCAR	Universidade Federal de São Carlos
UV	Ultravioleta
Zn	Zinco
ZnO	Óxido de Zinco
ZrO ₂	Dióxido de Zircônio
pH	Potencial hidrogeniônico

SÍMBOLOS

g	Gramas
mg	Miligramas por gramas
ml	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
Nº	Número
°C	Graus Celsius
µl	Microlitros
%	Porcento

Min	Minutos
s	Segundos
>	Superior
+	Mais/soma
v	Volume
p	Página
n	Número
¼	Um quarto

RESUMO

Introdução: O uso da tecnologia na área da saúde vem se tornando cada vez mais necessário, principalmente, quando voltado à prevenção, diagnóstico, tratamento de patologias e sua reabilitação – neste estudo, usamos a nanotecnologia com o intuito de minimizar ao máximo o desenvolvimento de infecções por *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* oriundas de cateteres inseridos em pacientes hospitalizados, além de reduzir os gastos provenientes dessas internações. As nanopartículas revestidas por agentes antibacterianos e antifúngicos são indexadas em forma de *coating* nos materiais de forma interna e/ou externamente, liberando o composto “in loco”, diminuindo assim o risco de formação de biofilmes. **Objetivos:** O objetivo geral deste estudo foi sintetizar e utilizar nanomateriais orgânicos e inorgânicos em revestimento de cateter, para controle de microrganismos. **Material e Métodos:** Filmes de nanopartículas compostas por: ZrO₂ (Dióxido de Zircônio), Fe₃O₄ (Óxido de Ferro), Ag (Prata), TiO₂ (Dióxido de Titânio) e o ZnO (Óxido de Zinco), aplicados em amostras de cateter de silicone e em disco de aço. Os nanocompósitos foram sintetizados pelo Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) – nChemi Engenharia de Materiais LTDA, com complemento de análise microbiológica no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, SP – FAMERP para realização dos experimentos. Foram avaliadas as características do filme de nanopartículas e dos compostos presentes nos protótipos. Esses compostos foram analisados quanto a capacidade de impedir ou não o crescimento bacteriano e/ou fúngico quando em contato com os corpos de prova experimentais. **Resultados:** Inicialmente foi observado que a indexação em silicone não ocorreu conforme previsto, uma vez que temperaturas altas exigidas em etapas específicas de adsorção prejudicariam a estrutura do silicone. Assim, a indexação foi realizada em disco de aço que demonstrou a inibição de *Staphylococcus aureus*, quando em contato com a Ag e ZnO; e da *Klebsiella pneumoniae* quando em contato com a Ag, ZnO, ZnO + Ag, TiO₂ + Ag, ZrO₂ + TiO₂ e ZrO₂ + Ag. A *Candida albicans* foi inibida com o uso de ZnO + Ag, TiO₂ + Ag e Ag e a *Candida parapsilosis* inibida por Ag, ZnO e ZrO₂ + Ag. No caso da *Escherichia coli*, foi inibida pelo TiO₂ + Ag, ZrO₂ + TiO₂ e ZrO₂ + Ag. **Conclusões:** Os compostos Ag, TiO₂ + Ag, ZnO, ZrO₂ + Ag e ZrO₂ + TiO₂ foram os que apresentaram inibição total dos microrganismos escolhidos. Observou-se também que os corpos de prova compostos por aço inoxidável, apresentaram a ação inibitória desejada para o estudo e que o processo de fixação e secagem dos compostos indexados nos corpos de prova, é extremamente relevante para a ação antimicrobiana.

Palavras-chave: 1. Cateter; 2. Revestimento com Agentes Antimicrobianos; 3. Nanotecnologia; 4. Crescimento Bacteriano e Fúngico; 5. Redução de Infecções.

ABSTRACT

Introduction: The use of technology in health care has become increasingly necessary, especially when this is aimed at the prevention, diagnosis, treatment of diseases and their rehabilitation - in this study, we used nanotechnology to minimize the development of infections as much as possible by *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, arising from catheters inserted in hospitalized patients in addition to reduce the expenses of these hospitalizations. The nanoparticles coated with antibacterial and antifungal agents are indexed as a coating on the materials internally and/or externally, releasing the compound "in loco", thus reducing the risk of biofilm formation.

Objectives: The general objective of this study was to synthesize and use organic and inorganic nanomaterials in catheter coating, to control microorganisms.

Material and Methods: Nanoparticles film composed of: ZrO_2 (Zirconium Dioxide), Fe_3O_4 (Iron Oxide), Ag (Silver), TiO_2 (Titanium Dioxide) e o ZnO (Zinc Oxide), applied to catheter samples of silicone and steel disk. The nanocomposites were synthesized by the Chemistry Department of the Federal University of São Carlos (UFSCAR) - nChemi Engenharia de Materiais LTDA, with a complement of microbiological analysis at the Microbiology Laboratory of the Faculty of Medicine of São José do Rio Preto, SP - FAMERP to carry out the tests experiments. The characteristics of the nanoparticle film and the compounds present in the prototypes were evaluated. These compounds were analyzed for their ability to prevented or not prevent bacterial and/or fungal growth when in contact with experimental specimens.

Results: Initially, it was observed that the silicone indexing has not occurred as expected, since the high temperatures required in specific adsorption steps would damage the silicone structure. Thus, the indexing was performed on a steel disk that demonstrated the inhibition of *Staphylococcus aureus* when in contact with Ag and *Klebsiella pneumoniae* when in contact with Ag and ZnO. *Candida albicans* was inhibited using ZnO + Ag, TiO_2 + Ag and Ag and *Candida parapsilosis* was inhibited by Ag and ZnO.

Conclusions: The compounds Ag, TiO_2 + Ag, ZnO + Ag were the ones that presented total inhibition of the chosen microorganisms. It was observed that the specimens composed of stainless steel, presented the desired inhibitory action for the study and that the process of fixing and drying of the compounds indexed on the specimens, is extremely relevant for the antimicrobial action.

Keywords: 1. Catheter; 2. Coating with Antimicrobial Agents; 3. Nanotechnology; 4. Bacterial and Fungal Growth; 5. Infection Reduction.

INTRODUÇÃO

1 Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a tecnologia em saúde é definida como a “aplicação de conhecimentos e habilidades organizados na forma de dispositivos, medicamentos, vacinas, procedimentos e sistemas desenvolvidos para resolver um problema de saúde e melhorar a qualidade de vida”.⁽¹⁾

Isto significa que o uso dessas tecnologias vem se fazendo cada vez mais necessário como forma de prevenção, diagnóstico, tratamento de doenças e até mesmo a reabilitação das mesmas.⁽²⁾ A utilização desses novos métodos como no caso deste trabalho, a nanotecnologia, pode contribuir significativamente na facilidade e rapidez dos tratamentos, além de reduzir custos gerados devido ao aumento do tempo de internação ou à crescente resistência bacteriana.

No Brasil, as IRAS (Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde) são consideradas injúrias preocupantes para a humanidade, principalmente, por não ocorrerem somente no âmbito hospitalar, mas em todos os ambientes considerados assistentes à saúde. Preocupantes também por propiciarem o uso de diferentes cateteres, que são consideradas peças principais para desenvolvimento de infecções.⁽³⁾

O cateterismo é um dos procedimentos mais comuns, realizado em pacientes que se encontram hospitalizados, estando diretamente relacionado à infusão de medicamentos, soluções, derivados do sangue e nutrientes; além de auxiliar em grande escala no processo de diagnóstico. E é através do acesso que é feita a inserção do cateter necessário.^(4,5)

O acesso pode ser o venoso periférico – onde o cateter é inserido em membros como braço, perna ou mão (veia cefálica, basilíca ou mediana) para terapias infusionais de curto período (Figura 1).⁽⁶⁾

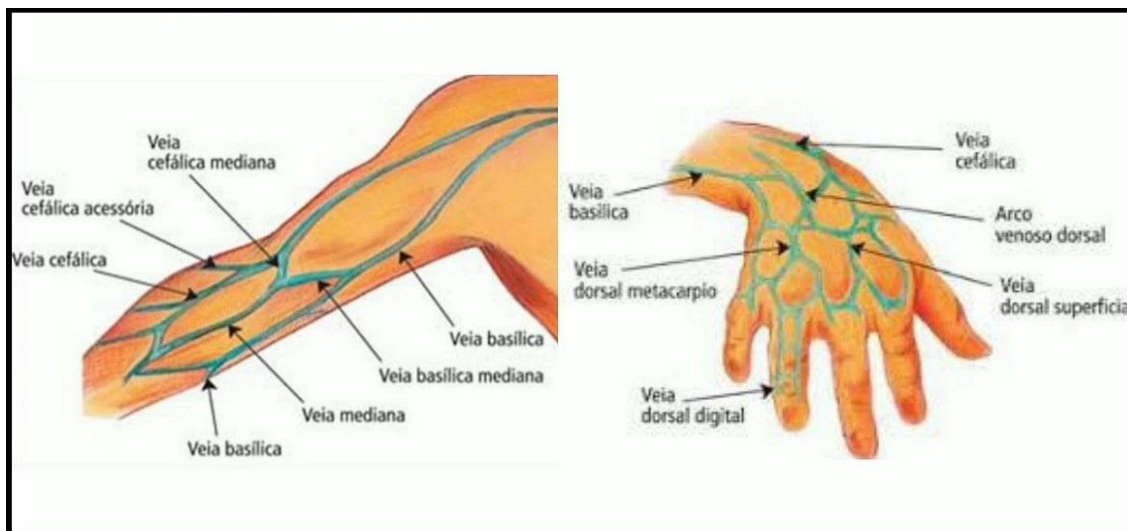


Figura 1 – Representação de acesso venoso periférico.

Ou pode ser o venoso central – onde o cateter é inserido em uma veia central/calibrosa (veia jugular, subclávia ou femoral) para terapias de longo período (Figura 2).⁽⁶⁾

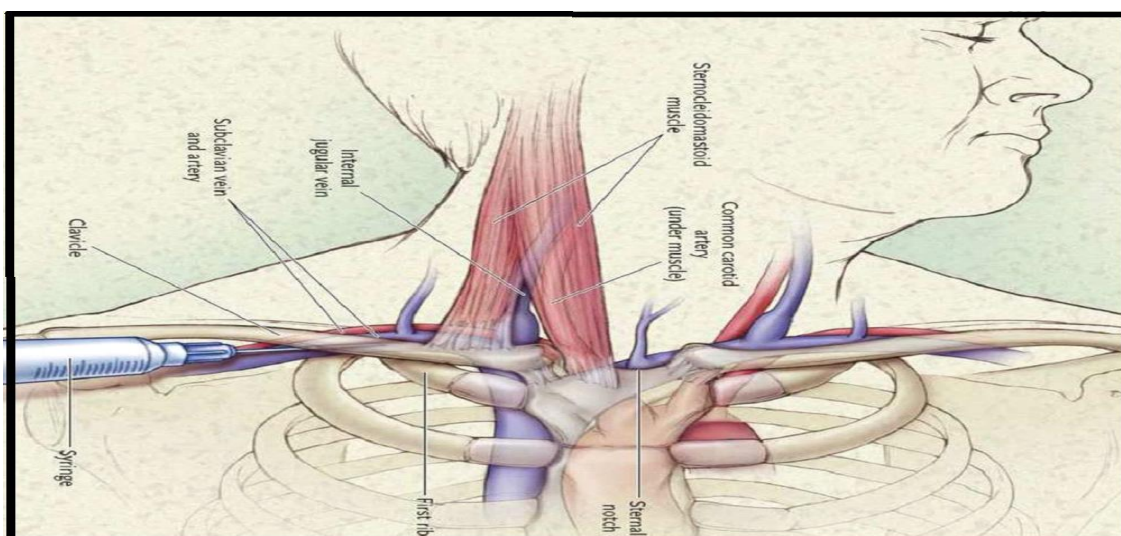


Figura 2 – Representação de acesso venoso central.

Tais acessos têm como função administrar via arterial ou venosa: fluídos, medicações, hemoderivados, hemodiálise, quimioterapia, contraste e nutrientes. ⁽⁷⁾

Atualmente existem diversos tipos de cateteres que são utilizados; alguns deles são: Cateter Jelco Intravenoso, Cateter Duplo J, Cateter Nasal, Cateter Venoso Central, Cateter Arterial Periférico, Cateter Urinário, Portocath, Cateter de Hemodiálise, entre outros. ^(5,7)

Ultimamente, os cateteres vêm sendo produzidos por materiais, como: plástico, silicone, hidrogel, látex e polivinil-pvc. Pesquisadores vêm desenvolvendo biomateriais que impeçam ou diminuam a formação de biofilmes, pois sua formação pode trazer risco de infecções locais e sistêmica. A formação do biofilme nada mais é do que a migração de microrganismos da pele presentes no local do sítio de inserção do cateter, para o interior dele e posterior contaminação do seu conector. ^(8,9,10)

As bactérias quando em biofilme apresentam diversas vantagens em relação às bactérias que vivem livremente. Primeiro que os biofilmes propiciam o crescimento das bactérias de maneira protegida. ^(11,12)

Para exemplificar, as bactérias ficam envoltas por uma matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos que conferem assim à comunidade - proteção contra diversos tipos de agressões, tais como: variações de pH, choque osmóticos, uso de antibióticos, falta de nutrientes e até mesmo contato com radiação UV, permitindo assim sua sobrevivência quando em condições desfavoráveis. (13)

As trocas de nutrientes entre si também se tornam mais fáceis e por isso, o crescimento fica mais propício, além de apresentarem maior tolerância aos agentes antimicrobianos. (11,12)

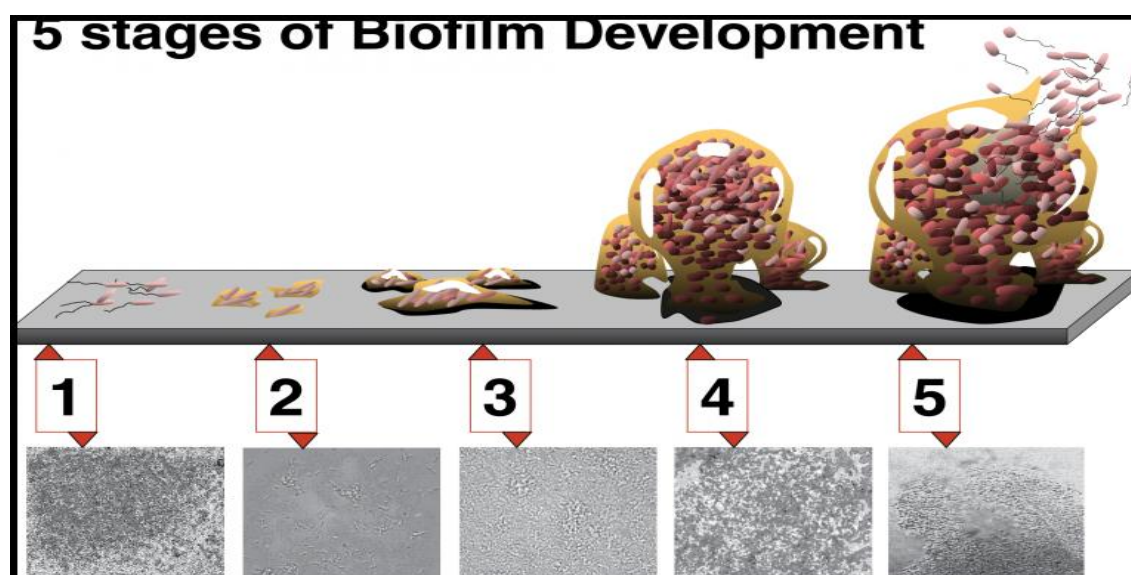


Figura 3 – Cinco estágios para o desenvolvimento de biofilme.

Na Figura 3, podemos observar que a primeira etapa para a formação do biofilme é a adesão de bactérias de vida livre à superfície em questão, de forma aleatória e reversível. A segunda etapa é a adesão que passa de reversível para irreversível. (14,15)

Na terceira e quarta etapa, as bactérias começam a secretar as substâncias que protegerão a comunidade com o biofilme maduro – Esses biofilmes maduros são

envoltos por substâncias produzidas pelas próprias bactérias e rodeados por poros e canais de água que funcionam como um sistema de troca de nutrientes, oxigênio e metabólitos que precisam ser secretados para fora do biofilme. ^(14,15)

Na quinta e última fase da formação do biofilme ocorre quando o ambiente se torna desfavorável e ocorre o descolamento do biofilme maduro; esse descolamento é forma de agregados celulares. Após o descolamento, as bactérias livres podem colonizar novos ambientes e formar novos biofilmes. ^(14,15)

Em se tratando das espécies estudadas, quando falamos do gênero dos fungos como *Candida* - esses são microrganismos que residem como comensais, os quais fazem parte da composição de organismos da microbiota normal de pessoas saudáveis. Entretanto, quando o hospedeiro apresenta seu sistema imune comprometido (baixa imunidade), essas espécies tendem a se manifestar de maneira agressiva e patogênica. Assim passam a ser consideradas oportunistas. ^(16,17)

A *Candida albicans* que foi estudada, sem dúvida alguma é considerada a espécie predominantemente isolada em infecções; sejam superficiais ou invasivas. É a espécie com maior conhecimento patogênico, devido aos diversos fatores de virulência descobertos. ⁽¹⁶⁾

Já no caso da *Candida parapsilosis* emerge como um patógeno nosocomial associado a cateteres e procedimentos invasivos, com manifestações clínicas que incluem fungemias, endocardites, endoftalmites, artrites e peritonites. ⁽¹⁶⁾

E em se tratando das bactérias que foram estudadas nesta pesquisa, a *Klebsiella pneumoniae* coloniza os seres humanos quando em ambiente hospitalar, colonizando os indivíduos através de contato com secreções de pacientes infectados, partindo de que não sejam respeitadas normas básicas de higienização. A *Klebsiella* pode ser encontrada

em ambientes/locais, como: água, cereais, frutas, solo, vegetais e até nas fezes. Quando em organismos imunocomprometidos; a *Klebsiella pneumoniae* encontra um ambiente propício para seu desenvolvimento, levando o paciente a quadros infecciosos. ⁽¹⁷⁾

E no caso do *Staphylococcus aureus*, por mais que seja uma bactéria pertencente a microbiota normal dos seres humanos, a mesma é causadora de infecções consideradas leves, como infecções na pele e alimentares até infecções graves como, por exemplo, pneumonias, endocardites e septicemia. ⁽¹⁸⁾

Tendo em vista tais particularidades, a fim de minimizar a fixação e posterior proliferação dos biofilmes, utilizamos neste estudo a nanotecnologia. A qual é definida como uma área multidisciplinar que lida com a manipulação de componentes e sistemas cujo tamanho pode situar-se entre 1 e 100 nanômetros (nm). Com o seu auxílio, compostos antimicrobianos / antifúngicos são depositados na superfície do cateter (como revestimento), no lúmen ou incorporados no próprio material do cateter em forma de *dip coating* – revestimento do material em questão realizado por imersão em soluções. ^(19,20)

Um diferencial deste estudo é o uso de nanotecnologia – ou seja – a metodologia usada, que nos possibilita trabalhar com materiais a nível atômico ou molecular, criando grandes estruturas com uma organização elevada, visando produzir materiais inovadores e dispositivos com propriedades únicas. ⁽²¹⁾

1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi sintetizar e utilizar nanomateriais orgânicos e inorgânicos em revestimento de cateter, com o intuito de obter ação / controle antimicrobiano fúngico e bacteriano.

1.2 Objetivos Específicos

- Utilizar nanomateriais orgânicos e inorgânicos;
- Testar antimicrobianos com os microrganismos predominantes em infecções;
- Sintetizar um novo produto com ação antimicrobiana a ser liberada “in loco” durante seu uso.

MATERIAL E MÉTODO

2. Material e Método

2.1 Aspectos Éticos da Pesquisa

Não houve necessidade de submeter o estudo ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, por não envolver direta ou indiretamente seres humanos, incluindo que não houve o manejo de dados, informações ou materiais biológicos (Capítulo II.14 da Resolução Nº 466/2012). O estudo teve como objetivo principal a síntese de um novo produto.

2.2 Corpos de Prova e Forma de Avaliação do Crescimento

Foram encaminhados ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) – nChemi Engenharia de Materiais LTDA, amostras de cateteres de silicone e discos de aço considerados corpos de provas que passariam por tratamento químico para testes antimicrobianos.

Os materiais foram selecionados para triagem inicial, no qual o silicone foi escolhido por ser o composto comumente usado em cateteres e o aço, posteriormente escolhido, por suportar tratamento térmico de altas temperaturas.

E como o objetivo deste estudo é sintetizar um produto que impeça ou diminua o crescimento de microrganismos; a forma de avaliar os resultados será através da visualização do crescimento das bactérias e fungos em placa (que foram ou comumente semeados ou rolados pelo método de Maki) e por visualização do crescimento em torno do corpo de prova.

2.2.1 Corpos de Prova do Primeiro Experimento - Cateteres de Silicone

De acordo com o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), os compostos usados nos corpos de provas foram:

Amostra 1:

Solventes: Tolueno e THF (Tetraidrofurano).

Ativos: 1% de ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + 1,15% de Fe_3O_4 (Óxido de Ferro).

Amostra 2:

Solventes: Tolueno.

Ativos: 2% de ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + 0,03% de Ag (Prata).

Amostra 3:

Solventes: Isopropanol.

Ativos: 2% ZnO (Óxido de Zinco) + 0,03% de Ag (Prata).

Amostra 4:

Solventes: Isopropanol.

Ativos: 2% de ZnO (Óxido de Zinco).

Amostra 5:

Branco (sem nenhum ativo).

Seguindo da descrição sobre as deposições realizadas:

“Os filmes de nanopartículas foram preparados pela empresa nChemi Engenharia de Materiais LTDA e aplicados nas amostras de cateter através de processo de “*dip coating*” com soluções descritas acima, com velocidade de retirada de cerca de 50 mm/min. Em seguida as amostras foram colocadas em estufa a 130°C durante 30

minutos. As nanopartículas de ZrO_2 e de Fe_3O_4 foram funcionalizadas com ácido oleico e oleilalcool, respectivamente, sendo que em ambos os casos, cerca de 35% da massa foi composta dessas moléculas. Na amostra 2, por exemplo, dos 2% indicados como nanopartículas de ZrO_2 , 65% da massa foi de fato o ZrO_2 , e 35% é ácido oleico. As moléculas funcionalizantes permanecem na superfície do cateter, após a aplicação, pois a temperatura de 130°C não é suficiente para degradá-las, e uma temperatura maior não poderia ser usada devido ao material do cateter. Assim, ao final do processo, na amostra 2 como exemplo, um filme fino de ZrO_2 , ácido oleico e prata foi formado na superfície dos cateteres, com composição aproximada de 64% ZrO_2 , 34,5% de ácido oleico e 1,5% de Ag.

As nanopartículas de Zn não apresentam funcionalização relevante; assim as amostras 3 e 4 não apresentam moléculas orgânicas no final do processo”.

“É possível que os resultados não tenham sido positivos para atividade antimicrobiana, pois os ativos não estavam bem aderidos a superfície dos cateteres. Esse ponto é algo que está sendo estudado para ser executado melhor, inclusive com um novo método de produção das nanopartículas de prata.”

2.2.1.1 Procedimento do Primeiro Experimento

O experimento com o primeiro protótipo procedeu-se no mês de Fevereiro de 2021 com os seguintes microrganismos: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Para as bactérias foi usado o caldo BHI e para os fungos, o caldo Sabouraud – o inóculo foi padronizado na escala 0,5 de Mc Farland. Os cateteres foram inseridos nos

tubos de ensaio de vidro e incubados por 24 horas, em estufa a 36,5°C (Figura 4, 5, 6, 7 e 8).

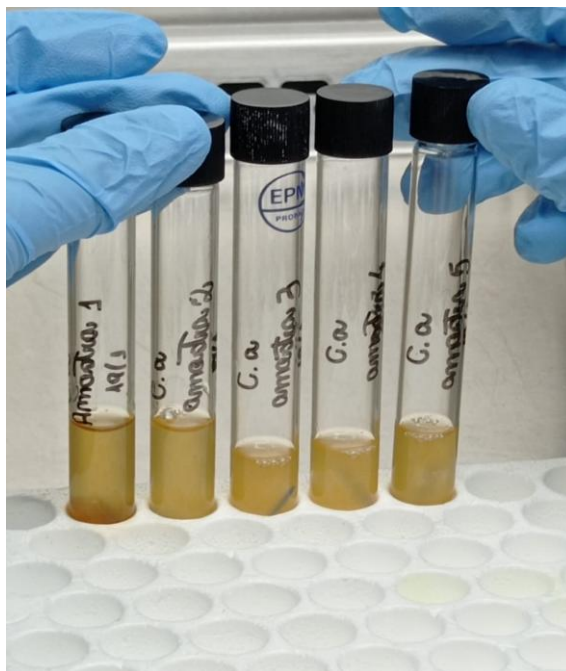


Figura 4 – *Candida albicans* em contato com os cinco corpos de prova.

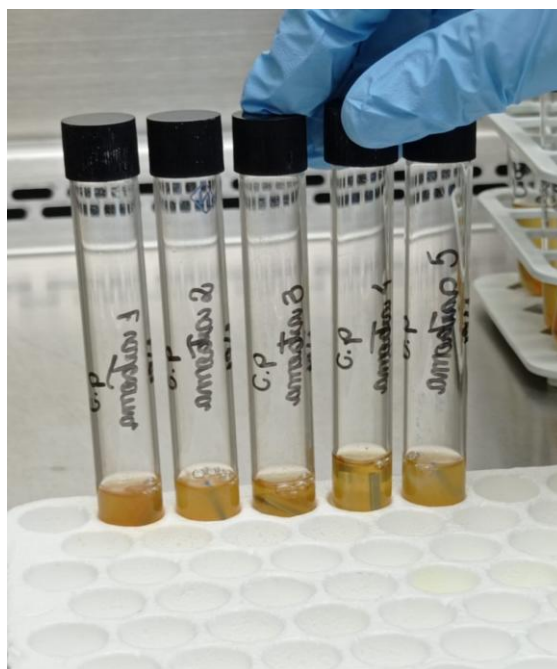


Figura 5 – *Candida parapsilosis* em contato com os cinco corpos de prova.

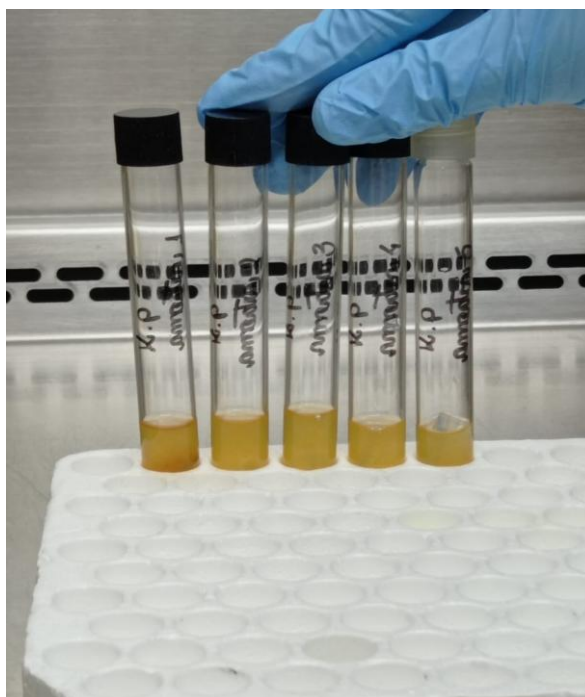


Figura 6 – *Klebsiella pneumoniae* em contato com os cinco corpos de prova.

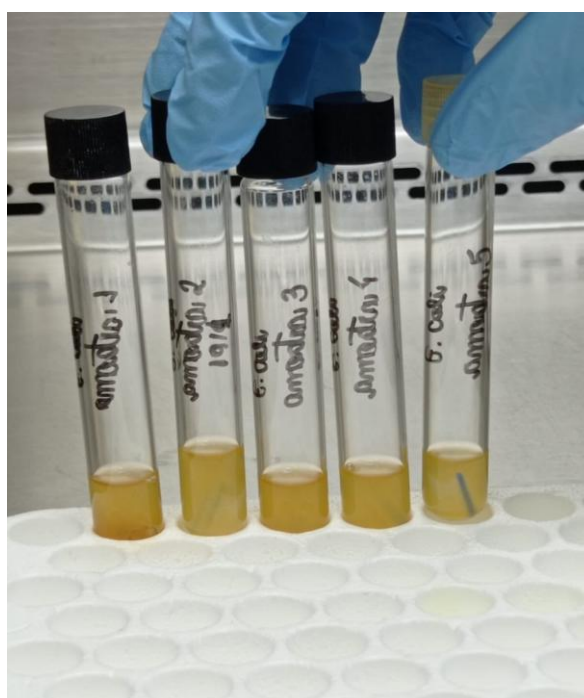


Figura 7 – *Escherichia coli* em contato com os cinco corpos de prova.

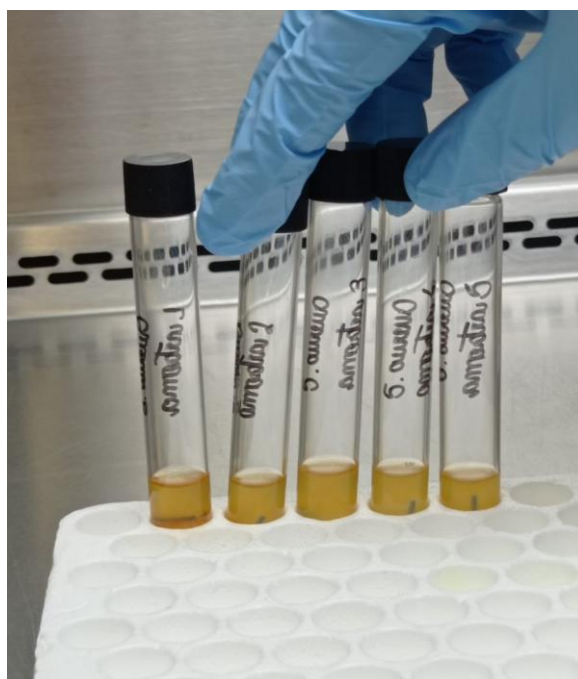


Figura 8 – *Staphylococcus aureus* em contato com os cinco corpos de prova.

Após o período de incubação, o cateter foi tirado do tubo e colocado em placa de Petri para aplicação do Método Semi Quantitativo de Maki – a placa foi incubada por mais 24 horas, em estufa à 36,5°C (Figura 9).



Figura 9 – Método Semi Quantitativo de Maki.

O cateter anteriormente rolado em placa, foi fracionado em duas partes: uma parte foi submetida em cultura líquida presente em placa de Elisa – onde o Revelador TTC foi adicionado para facilitar leitura dos resultados e indicar viabilidade celular e a outra foi colocada em tubo de ensaio, contendo solução fisiológica estéril. Os tubos foram agitados por dois minutos no vórtex (para desprender todo sedimento), onde após a retirada do cateter, 50µl foram semeados em placas de Petri, contendo meios específicos para bactérias e fungos. A incubação de todas as culturas ocorreu em temperatura constante por 24 horas.

2.2.2 Corpos de Prova do Segundo Experimento – Disco de Aço

Ainda de acordo com o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), os compostos usados nos corpos de provas de aço, foram os mesmos que nos cateteres de silicone, porém com diferenças na metodologia da indexação dos compostos.

A descrição sobre as deposições realizadas no segundo procedimento, foram as seguintes:

“Para o segundo lote de amostras, dessa vez de aço, a aplicação também foi feita pelo método de “*dip coating*”, com velocidade de emersão de 10 mm/min e aplicação de 4 camadas. Entre cada camada foi feita uma secagem a 140°C por cinco minutos em estufa e, após a última camada um tratamento térmico a 400°C por cinco minutos. As

nanopartículas de ZrO_2 e Fe_3O_4 são as mesmas utilizadas anteriormente, inclusive com as mesmas funcionalizações. As nanopartículas de prata são diferentes das do primeiro lote e agora também apresentam funcionalização de ácido oleico (10-20%).

Para a amostra de composição ZrO_2 e Fe_3O_4 , a solução usada na deposição do revestimento de filme fino era composta de 95% de massa de tolueno, 4,5% de ZrO_2 (65% ZrO_2 e 35% ácido oleico) e 0,5% de Fe_3O_4 (65% de Fe_3O_4 e 35% oleilalcool). No entanto, como a amostra foi tratada a 400°C , ao final foi obtido um filme cerâmico contendo 90% de ZrO_2 e 10% de Fe_3O_4 , sem presença de moléculas orgânicas.

Para as amostras de composição ZrO_2 e prata foram usadas soluções contendo 95% de tolueno, 5% de ZrO_2 (65% ZrO_2 e 35% ácido oleico) e adição de nanopartículas de prata suficientes para que ao final do tratamento térmico os filmes cerâmicos obtidos tivessem 0,025% (amostra 1C) e 0,1% (amostra 4C) de prata, sem nenhuma molécula orgânica”.

2.2.2.1 Procedimento do Segundo Experimento

O experimento com o segundo protótipo procedeu-se no mês de Abril de 2021 com os seguintes microrganismos: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*.

Para as bactérias, o caldo BHI permaneceu em uso, assim como, para os fungos - o caldo Sabouraud – o inóculo foi padronizado na escala 0,5 de Mc Farland.

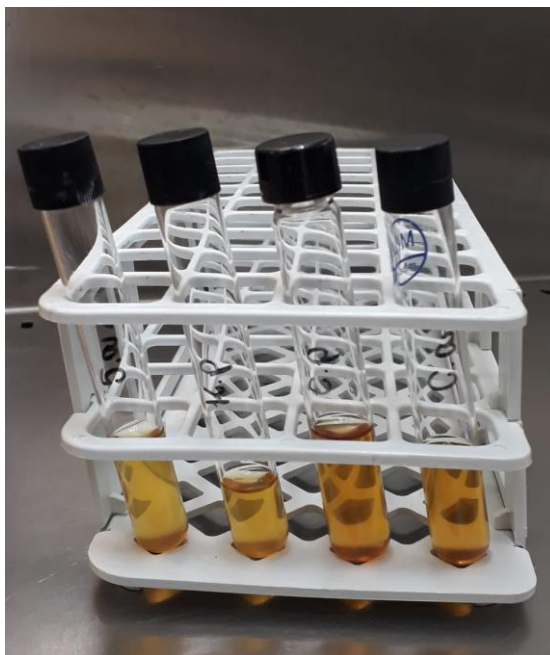


Figura 10 – Microrganismos em escala 0,5 de Mc Farland.

As placas foram devidamente identificadas (Figura 11) e foi inserido cada corpo de prova de cada produto em cima da identificação da placa, ou seja, o corpo de prova do produto 1, estava em cima do número 1 e, assim, sucessivamente (Figura 12). Posteriormente, as placas foram colocadas por 30 minutos na luz UV para esterilizar (Figura 13).



Figura 11 –
dos corpos de provas

Identificação do local
nas placas de Petri.

Figura 12 – Corpos de
suas posições nas placas

provas inseridos em
de Petri.

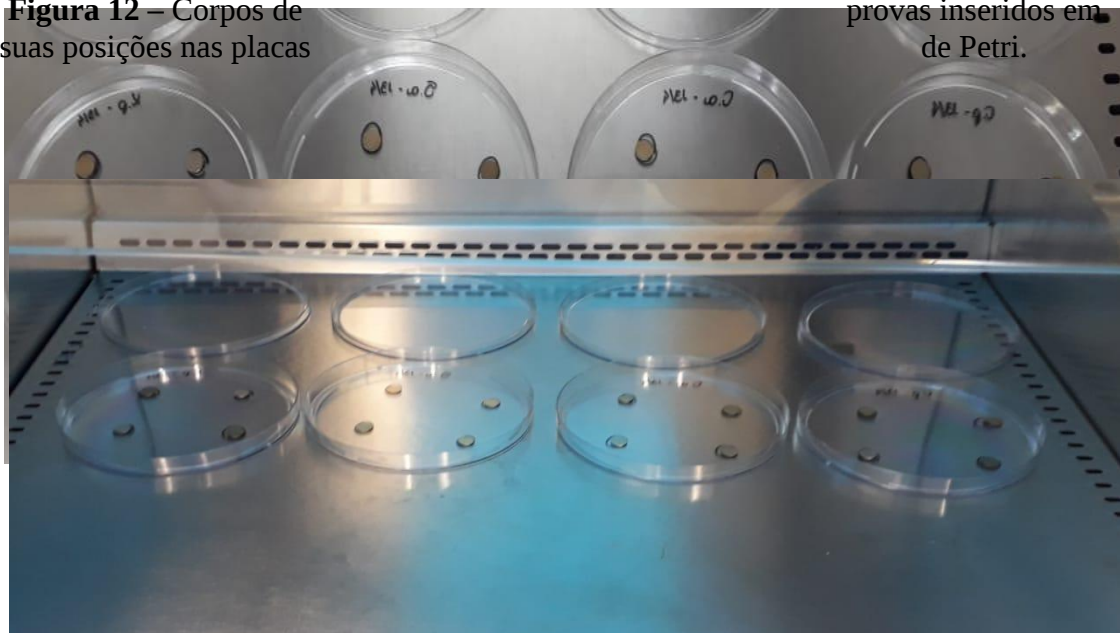


Figura 13 –
os corpos de prova em

Placas de Petri contendo
esterilização.

Após o período de esterilização, foi pipetado 20µl do inóculo de cada microrganismo em cima de cada corpo de prova – foi utilizada uma placa para cada microrganismo. O inóculo foi espalhado com alça descartável em todo o corpo para que sua superfície fosse coberta - delicadamente para evitar remoção do revestimento (Figura 14).



Figura 14 – Exemplo de inóculo em cima do corpo de prova.

As placas foram fechadas e incubadas dentro da câmara de fluxo laminar por 24 horas e após, os corpos de prova foram invertidos ficando em contato com o ágar (Figura 15).

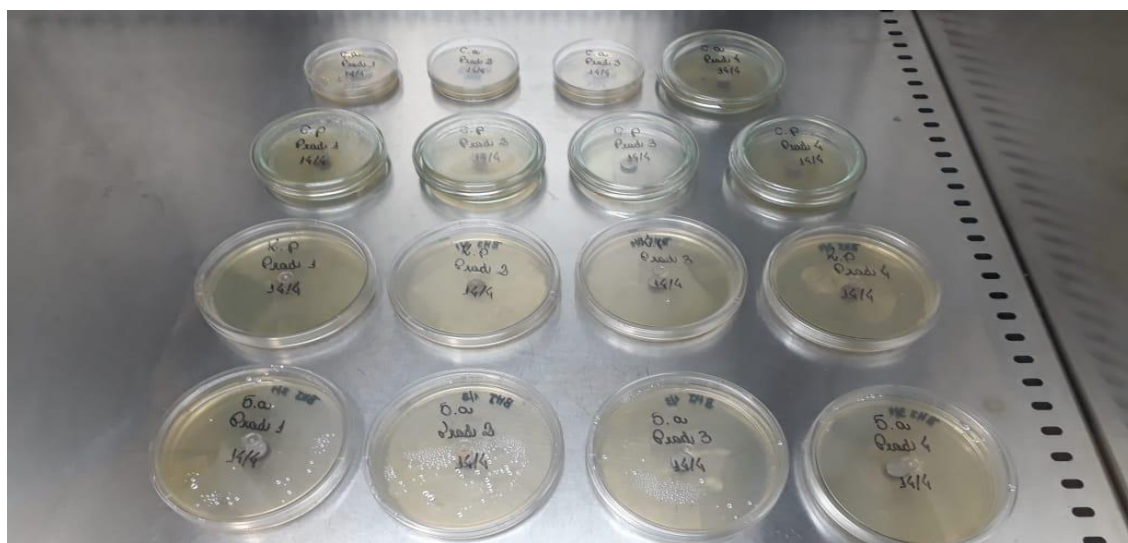


Figura 15 – Placas incubadas dentro da câmara de fluxo laminar, com corpos de prova em contato com o ágar.

As placas foram novamente incubadas, porém dessa vez em estufa à 36,5°C. Foi então feita a incubação por 24 horas (no final da tarde do mesmo dia da inversão, os corpos de prova foram retirados da placa).

2.2.3 Corpos de Prova do Terceiro Experimento – Disco de Aço

Segundo o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), os compostos utilizados no terceiro experimento, são idênticos aos corpos de prova do segundo experimento, diferindo na quantidade de camadas presentes.

A descrição sobre as deposições realizadas no procedimento foram:

“Para o terceiro lote de amostras, mantendo o disco em aço, a aplicação permaneceu pelo método de “*dip coating*” e seguiu-se todo o processo conforme descrito no segundo experimento, porém sintetizando amostras com 3 camadas com mistura de 90% ZrO_2 (45mg/g) e 10% Fe_3O_4 (5mg/g); amostras com 3 camadas ZrO_2 (50mg/g) e depois 1 camada de Ag (5mg/g); amostras com 3 camadas de ZnO (15 mg/g); amostras com 3 camadas de ZnO (15 mg/g) e 1 camada de Ag (5mg/g) e por fim, um corpo de prova sem nenhum composto”.

2.2.3.1 Procedimento do Terceiro Experimento

O experimento com o terceiro protótipo procedeu-se no mês de Agosto de 2021 com os seguintes microrganismos: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*.

Os corpos de prova recebidos foram inseridos em placas de Petri 35x10mm (pequenas), conforme vieram identificados – as mesmas, com o objetivo de esterilizar, foram autoclavadas. Água destilada, tubos de ensaio e placas de Petri 150x25mm (grandes), também foram esterilizadas para seu uso durante o experimento.

Devido a testarmos 5 compostos - juntamente do controle, um total de 6 placas de Petri foram separadas, onde cada uma foi identificada na tampa com o nome do composto que fora indexado nos corpos de prova presentes e inseridos dentro delas.

Cada placa continha 4 discos, que condiziam com a quantidade de microrganismos que estudamos. No verso das placas, foi identificado o local que cada corpo de prova ficaria (Figura 16).

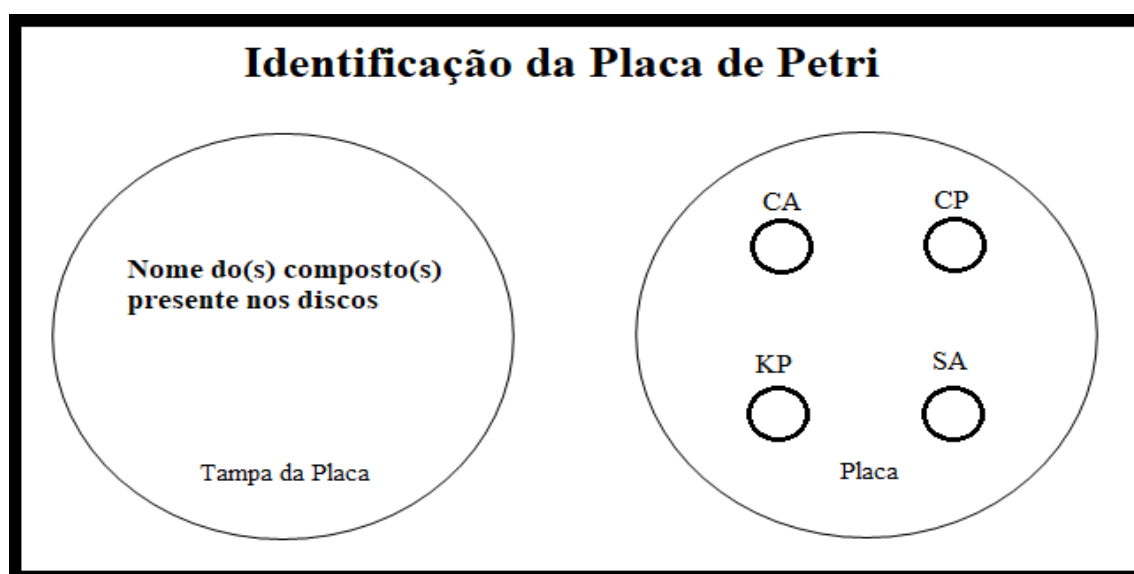


Figura 16 – Identificação da placa de Petri (Tampa e Placa).

Em cada um dos discos, foi pipetado 20µl do inóculo de cada microrganismo - padronizado na escala 0,5 de Mc Farland. - de forma homogênea, a fim de cobrir toda a superfície do disco.

As placas ficaram em repouso por 8 horas dentro da câmara de fluxo laminar e ao final das 8 horas, cada corpo de prova foi introduzido dentro de tubos de ensaio, contendo água esterilizada em seu interior e foram agitados em vórtex.

Após o processo de homogeneização, inóculos 10µl (alça) foram semeados em meias placas contendo caldo BHI para bactérias e caldo Sabouraud para fungos. Em ¼

da placa, o corpo de prova foi invertido, para que o lado em que o inóculo foi pipetado fique em contato com o ágar. Foi feito por fim, incubação por 24 e 48 horas (Figura 17).

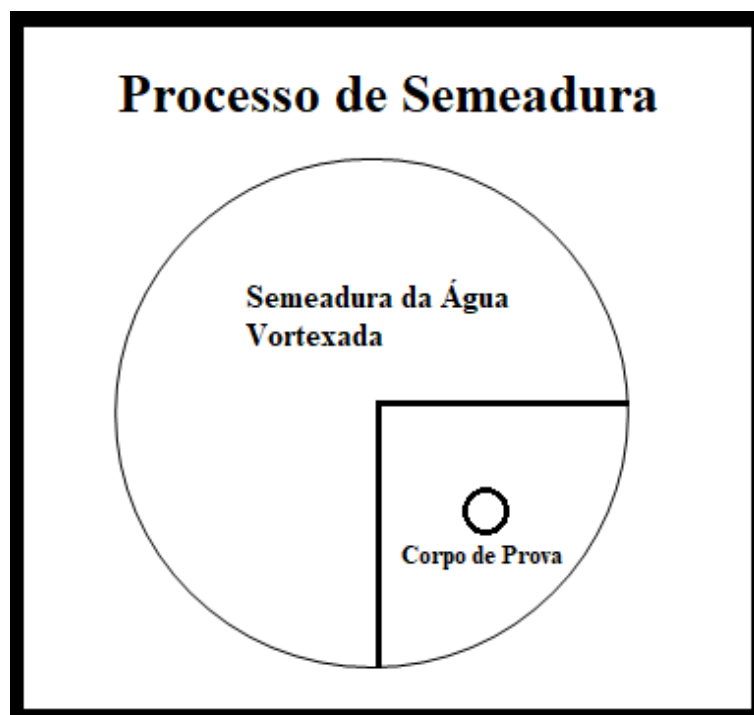


Figura 17 – Semeadura em placa com corpo de prova.

2.2.4 Corpos de Prova do Quarto Experimento – Disco de Aço

Segundo o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), os compostos utilizados no quarto e último experimento passaram por alteração e foram feitas combinações de compostos previamente usados (porém não em sua totalidade) – com quantidades diferentes, como por exemplo:

Amostra 1:

Solventes: Tolueno.

Ativos: 1% de ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + 0,02% de Ag (Prata).

Amostra 2:

Solventes: Tolueno.

Ativos: 1% de TiO_2 (Dióxido de Titânio) + 0,02% de Ag (Prata).

Amostra 3:

Solventes: Tolueno.

Ativos: 0,05% ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + 0,05% de TiO_2 (Dióxido de Titânio) + 0,02% de Ag (Prata).

Amostra 4:

Branco (sem nenhum ativo).

A descrição sobre as deposições realizadas neste último procedimento, por parte da nChemi foi diferente dos outros experimentos:

“O quarto lote de amostras manteve-se em disco de aço, porém os compostos foram depositados nos corpos de prova através de uma pistola de ar comprimido, usando a solução como se fosse uma tinta e não mais pelo método “*dip coating*”. Seguiu-se então para o processo de tratamento térmico, que também foi diferente dos outros lotes – neste quarto lote, usou-se um soprador de ar quente e foram feitas 3 camadas - entre cada camada foi feita uma secagem a 400°C por 90 segundos”.

2.2.4.1 Procedimento do Quarto Experimento

O experimento com o quarto protótipo procedeu-se no mês de Julho de 2022 com os seguintes microrganismos: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

Os corpos de prova previamente recebidos foram inseridos em duas placas de Elisa de 24 poços e foram sinalizados conforme vieram identificados (Figura 18). Foram utilizadas duas placas de Elisa, a fim de manter uma em contato com a luz UV e uma na ausência de luz. Inóculos de 0,5 da escala Mc Farland de cada microrganismo

foram preparados e pipetados em 20 μ l em cima de cada corpo de prova de forma homogênea, a fim de cobrir toda a superfície do disco.



Figura 18 – Representação das placas de Elisa (Luz e sem Luz).

As placas ficaram em suas respectivas câmaras de fluxo laminar, uma com luz direta na placa, com o intuito de verificar se seu uso potencializaria a ação germicida e a outra com luz apagada, com a placa devidamente coberta (Figura 19). Elas permaneceram em fluxo por 8 horas para que os inóculos secassem em cima dos corpos de prova.

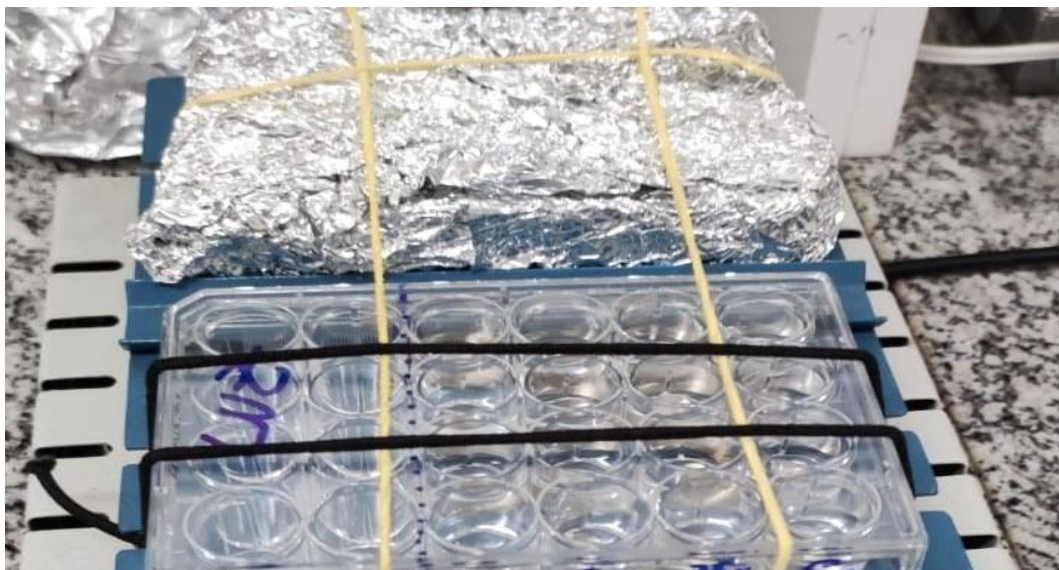


Figura 19 – Representação das placas de Elisa descoberta (luz) e coberta (sem luz).

Passadas as 8 horas, os corpos foram transferidos da placa de Elisa para frascos de vidro contendo 2mls de água destilada (Figura 20). Tanto a água destilada, como as ponteiros e os frascos de vidro foram autoclavados com o objetivo de esterilizar tais matérias para seu uso durante o experimento. As amostras foram todas agitadas em vórtex por 30 segundos.

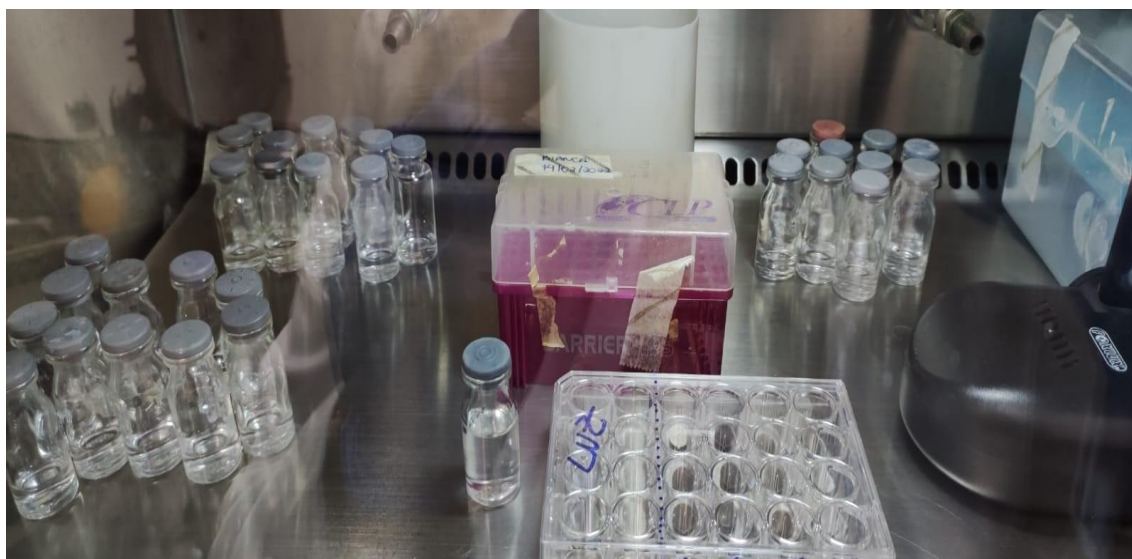


Figura 20 – Momento de transferência da placa de Elisa para frascos de vidro.

Após o processo de homogeneização, inóculos 10 μ l (alça) foram semeados em placas de Petri de 100x20mm, contendo ágar BHI para bactérias e ágar Sabouraud para fungos, usando para semear – alça de Drigalski – a fim de obter um esfregaço mais homogêneo por toda a superfície da placa (Figura 21).

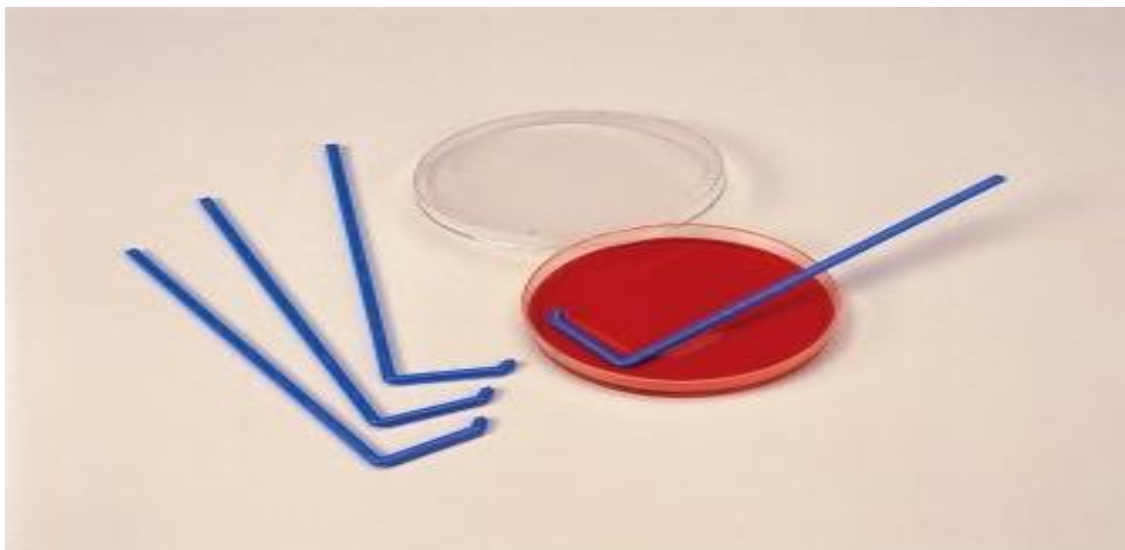


Figura 21 – Semeadura com alça de Drigalski.

Outras duas placas de Petri foram fracionadas e usadas para comportar os corpos de prova que foram inseridos de forma que o lado em que o inóculo foi pipetado fique em contato com o ágar (Figura 22). Os corpos foram então transferidos dos frascos de vidro para a placa fracionada, aderidos ao ágar e feito por fim, incubação à 36,5°C por 24 e posteriormente, 48 horas a todos os microrganismos testados.

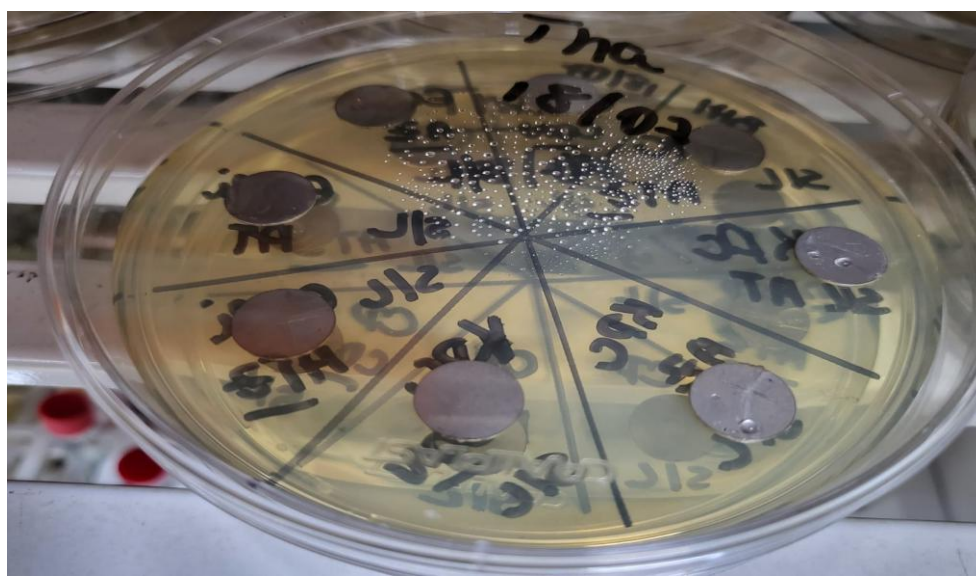


Figura 22 – Representação da placa de Petri fracionada.

RESULTADOS

3. Resultados

3.1 Resultados dos Ensaaios Laboratoriais obtidos no Primeiro Experimento

O experimento foi realizado em cateter de silicone, com as devidas concentrações dos compostos: dióxido de zircônio, prata, óxido de zinco e óxido de ferro, porém, foi observado que não houve inibição ou diminuição do crescimento bacteriano e fúngico em nenhum dos compostos, não atingindo assim, os resultados esperados para o experimento em questão (Tabela 1).

Tabela 1 – Resultados obtidos no Primeiro Experimento em Cateter de Silicone.

Microrganismos	Compostos	Crescimento Microbiano
<i>Staphylococcus aureus</i>	Controle	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Controle	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO	Sim
<i>Candida albicans</i>	Controle	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZnO	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	Controle	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO	Sim
<i>Escherichia coli</i>	Controle	Sim
<i>Escherichia coli</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Escherichia coli</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Escherichia coli</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim

<i>Escherichia coli</i>	ZnO	Sim
-------------------------	-----	-----

ZnO: óxido de zinco; Ag: prata; ZrO₂: dióxido de zircônio; Fe₃O₄: óxido de ferro.

3.2 Resultados dos Ensaio Laboratoriais obtidos no Segundo Experimento

O segundo experimento teve alteração no material do estudo, o mesmo foi realizado em disco de aço ao invés do silicone, com as devidas concentrações descritas de dióxido de zircônio, prata, óxido de zinco e óxido de ferro. Os compostos usados no disco de aço permaneceram iguais ao primeiro experimento.

Foi observado que com exceção da *Candida parapsilosis* que foi inibida com o uso dos compostos ZrO₂ + Ag, não houve inibição dos demais microrganismos com nenhum outro composto. Porém, foi possível de observar que apesar de haver crescimento microbiano com os demais compostos e microrganismos, o disco de “controle” apresentou crescimento diferente dos demais – sendo este crescimento visualmente maior, quando comparado aos demais. (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados obtidos no Segundo Experimento em Disco de Aço.

Microrganismo	Compostos	Crescimento Microbiano
<i>Staphylococcus aureus</i>	Controle	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Controle	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO	Sim
<i>Candida albicans</i>	Controle	Sim

<i>Candida albicans</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZnO	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	Controle	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Ag	Não
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO	Sim
ZnO: óxido de zinco; Ag: prata; ZrO ₂ : dióxido de zircônio; Fe ₃ O ₄ : óxido de ferro.		

3.3 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Terceiro Experimento

O terceiro experimento teve seu material mantido em disco de aço, com as concentrações previamente descritas de dióxido de zircônio, prata, óxido de zinco, óxido de ferro e com um diferencial no acréscimo de dióxido de titânio.

Foi observado neste experimento - após o período de incubação - uma inibição do *Staphylococcus aureus* em contato com os compostos Ag e ZnO; da *Klebsiella pneumoniae* em contato com ZnO + Ag e somente com Ag e ZnO; da *Candida albicans* em contato com ZnO + Ag, TiO₂ + Ag e Ag; e da *Candida parapsilosis* em contato com a Ag e ZnO.

Porém, também se observou que apesar de haver crescimento microbiano com os demais compostos e microrganismos, o disco de “controle” apresentou crescimento diferente dos demais – sendo este crescimento em maior número quando comparado aos outros corpos de prova que continham algum composto antimicrobiano (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados obtidos no Terceiro Experimento em Disco de Aço.

Microrganismo	Compostos	Crescimento Microbiano
<i>Staphylococcus aureus</i>	Controle	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	TiO ₂ + Ag	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ag	Não
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Staphylococcus aureus</i>	ZnO	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Controle	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO + Ag	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TiO ₂ + Ag	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ag	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZnO	Não
<i>Candida albicans</i>	Controle	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZnO + Ag	Não
<i>Candida albicans</i>	TiO ₂ + Ag	Não
<i>Candida albicans</i>	Ag	Não
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZnO	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	Controle	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	TiO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	Ag	Não
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Fe ₃ O ₄	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZnO	Não

“ZnO”: óxido de zinco; “Ag”: prata; “TiO₂”: dióxido de titânio; “ZrO₂”: dióxido de zircônio; “Fe₃O₄”: óxido de ferro.

3.4 Resultados dos Ensaios Laboratoriais obtidos no Quarto Experimento

O quarto experimento manteve como material o disco de aço, com as devidas concentrações descritas de dióxido de zircônio, dióxido de titânio e prata.

Foi observado neste experimento - após o período de incubação - uma ação antimicrobiana eficaz em dois microrganismos – *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*.

Em comparação com os demais microrganismos, os compostos não apresentaram inibição microbiana, diferindo somente em quantidade, do disco de “controle”, devido ao fato do mesmo não conter nenhum composto indexado, permitindo assim que o crescimento de microrganismos seja maior em sua superfície ou ao redor (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados obtidos no Quarto Experimento em Disco de Aço.

Microrganismo	Compostos	Crescimento Microbiano
<i>Escherichia coli</i>	Controle	Sim
<i>Escherichia coli</i>	TiO ₂ + Ag	Não
<i>Escherichia coli</i>	ZrO ₂ + TiO ₂	Não
<i>Escherichia coli</i>	ZrO ₂ + Ag	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Controle	Sim
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TiO ₂ + Ag	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + TiO ₂	Não
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ZrO ₂ + Ag	Não
<i>Candida albicans</i>	Controle	Sim
<i>Candida albicans</i>	TiO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + TiO ₂	Sim
<i>Candida albicans</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	Controle	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	TiO ₂ + Ag	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + TiO ₂	Sim
<i>Candida parapsilosis</i>	ZrO ₂ + Ag	Sim

“TiO₂”: dióxido de titânio; “Ag”: prata; “ZrO₂”: dióxido de zircônio.

De forma geral, ao que se refere aos resultados obtidos, o atual trabalho obteve os seguintes compostos com ação antimicrobiana confirmada, para as seguintes espécies:

Tabela 5 – Compostos testados com ação antimicrobiana confirmada para espécies avaliadas.

Compostos	Bactérias			Fungos	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
Ag	X	X		X	X
TiO ₂ + Ag	X	X	X	X	X
ZnO	X	X		X	X
ZrO ₂ + Ag		X	X	X	X
ZrO ₂ + TiO ₂		X	X		

“Ag”: prata; “TiO₂”: dióxido de titânio; “ZnO”: óxido de zinco; “ZrO₂”: dióxido de zircônio.

Verificou-se por fim, que de todos os compostos testados, somente um deles não apresentou nenhum tipo de inibição de crescimento bacteriano e fúngico, sendo no caso o Fe₃O₄ (Óxido de ferro).

DISCUSSÃO

4. Discussão

Desde a década de 1990, a preocupação com as infecções hospitalares vem crescendo cada vez mais, principalmente porque uma infecção hospitalar não é só relacionada ao período em que o paciente se encontra internado – envolve também o período após a alta, onde a infecção pode ser relacionada com aquela hospitalização. ⁽²²⁾

A importância de erradicar ou tentar reduzir as infecções se dá pelo fato das IRAS (antiga infecção hospitalar), representarem um dos mais relevantes problemas de saúde pública em todo o mundo justamente por causarem aumento de morbidade e mortalidade de pacientes. Além de gerar um impacto tanto no âmbito econômico como no social. ⁽²³⁾

Com a crescente resistência aos antimicrobianos, os danos gerados por infecções causadas pelo uso de cateteres nas internações, estão se tornando cada vez maiores e medidas como:

- Desinfecção no momento de inserção e manutenção dos cateteres;
- Sistema que sinalize a remoção de cateteres desnecessários;
- Uso de barreiras estéreis (paramentação) quando na inserção dos cateteres;
- Aplicação de clorexidina > 0,5% para o preparo da pele no momento de receber o cateter ou em forma de curativo à 2%;

Auxiliam na prevenção de infecções quando associadas ao uso de cateteres – sejam eles de longa ou curta duração. Porém, outra medida que corrobora com o presente trabalho é o uso de cateteres com antimicrobianos. ⁽²⁴⁾

Recentemente, o uso de cateteres cobertos por antimicrobianos entrou para o arsenal de maneiras a se prevenir infecções hospitalares. Um estudo desenvolvido por médicos da unidade de terapia intensiva da Casa de Saúde São José, demonstraram em concordância com a presente investigação, que o crescimento microbiano é diferente quando com uso de cateteres com antimicrobianos, ou ocorre inibição ou diminuição deste crescimento.⁽²⁵⁾

Nesta pesquisa, a primeira evidência obtida foi em relação aos materiais de cateteres usados. O primeiro experimento foi realizar testando o cateter de silicone – que de acordo com a literatura é o mais comumente usado por diversos fatores, como:

- Pode ser usado em cateteres considerados de longa duração;
- Material mais resistente a dobras – flexível;
- Apresenta hemo e biocompatibilidade considerável;
- Possui estabilidade térmica, química e enzimática;

Porém, de acordo com a literatura, o silicone apresenta resistência à pressão e exposição à temperatura limitada⁽²⁶⁾ – confirmando o resultado obtido no primeiro experimento.

Inclusive, nossos parceiros da nChemi Engenharia de Materiais LTDA explicaram que: “É possível que os resultados não tenham sido satisfatórios, pois os ativos podiam não estar bem aderidos à superfície dos cateteres, devido ao fato de não ser possível de realizar muitos processos de secagem em altas temperaturas, pois o silicone derrete. Esse ponto está em estudo para ser melhor executado, inclusive com um novo método de produção das nanopartículas de prata”.

O aço inoxidável que também foi testado é muito utilizado na fabricação de cânulas metálicas, introdutores bipartidos para que seja feita a inserção de cateteres e

dispositivos com asas, porém devido ao mesmo ser rígido seu uso pode contribuir para a ocorrência de problemas como: trombos, obstruções e flebite, além de não poder ser inserido em regiões de articulações, devido ao risco de causar infiltração, rompimento de vasos, prejudicando também a mobilidade do paciente. ⁽²⁶⁾

Apesar de apresentar mais restrições na literatura, neste estudo o material de aço inoxidável apresentou resultados inibitórios por ser composto por um material que tem a capacidade de aguentar temperaturas extremas. Temperaturas estas que foram usadas no processo de fixação e secagem dos compostos antimicrobianos em sua superfície.

De acordo com um estudo realizado pela FAPESP, soluções antimicrobianas quando aderidas no aço inox, possuem efeito eficaz inibindo o crescimento de microrganismos. Ainda no estudo, é citado que tais soluções antimicrobianas são aplicadas na superfície do aço como se fosse uma pintura ⁽²⁷⁾ – sendo esta uma das formas usadas nesta pesquisa para indexação dos compostos testados no corpo de prova, além também do método de “*dip coating*”.

Com relação aos antimicrobianos que foram estudados no primeiro experimento, foi encaminhado à nChemi diversos tipos de cateteres, em diferentes marcas e materiais de silicone para que fossem usados como protótipos no primeiro estudo e foi observado que não houve inibição dos microrganismos com os compostos usados, que foram: ZnO + Ag, ZrO₂ + Ag, ZrO₂ + Fe₃O₄ e ZnO, provavelmente devido ao fato de no momento da fixação e secagem dos compostos no silicone, não poder usar altas temperaturas, pois os mesmos derreteriam.

Em contrapartida, quanto a associação de antimicrobianos estudados no segundo experimento, observou-se a inibição da *Candida parapsilosis* com o uso de ZrO₂ associado a Ag., assim como no terceiro experimento no qual houve inibição da

Klebsiella pneumoniae e da *Candida albicans*; e no quarto experimento, da *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Esse resultado corrobora com os dados obtidos por Rodrigues e Miranda ⁽²⁸⁾, que constataram em seu estudo uma inibição de microrganismos, evitando a formação de colônias.

Porém, ainda sobre os dados de Rodrigues e Miranda ⁽²⁶⁾, a associação de ZrO_2 com Ag inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus*, contrariando os resultados obtido neste estudo, do qual houve crescimento deste microrganismo não só nesta associação, como em todos os outros compostos: $ZnO + Ag$, $ZrO_2 + Fe_3O_4$ e ZnO .

Quanto ao terceiro experimento realizado, obteve-se a inibição do *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* utilizando dos compostos Ag e ZnO – que de acordo com a literatura, apresentam ação antimicrobiana confirmada. Segundo García ⁽²⁹⁾ o alto efeito antimicrobiano da Ag ocorre tendo em vista à capacidade de destruição da membrana e posterior passagem por meio do corpo microbiano, causando danos a estrutura intracelular – por isso, a Ag de acordo com o estudo de García teve capacidade de confirmar os resultados obtidos neste estudo e inibir não só o *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* como também *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Em se tratando do ZnO , em atenção ao estudo de Arab ⁽³⁰⁾, seu mecanismo de ação ainda não é totalmente conhecido, todavia sua função antimicrobiana possui diversos mecanismos, como por exemplo: possível liberação de íons com ação antimicrobiana; possível interação desse composto com os microrganismos causando danos a integridade de suas células ou até mesmo a síntese de radicais livres – tendo isso em vista, o ZnO de acordo com o estudo de Arab ⁽³⁰⁾, conseguiu inibir além do

Staphylococcus aureus; o *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*.

Ainda sobre os resultados do terceiro experimento, observou-se também a inibição da *Candida albicans* através do uso dos associados $\text{TiO}_2 + \text{Ag}$. Em concordância com este resultado obtido, Sousa *et al.* ⁽³¹⁾, deixa explícito que o mecanismo de atividade antimicrobiana da Ag é voltada para alterações morfológicas e estruturais nas células microbianas, assim como o mecanismo de ação antimicrobiana do TiO_2 é ocasionar um desordenamento da membrana citoplasmática dos microrganismos. Portanto, o estudo de Sousa *et al.* ⁽³¹⁾, sugere que essa associação de TiO_2 com um antimicrobiano com capacidade de atravessar a membrana externa, como a Ag, pode resultar em atividade antimicrobiana elevada quando comparada a utilização isoladas de cada composto.

No estudo de Sousa *et al.* ⁽³¹⁾, os resultados de inibição corroboram com os resultados obtidos neste estudo, no caso, a *Candida albicans*. Entretanto, em contrariedade, o estudo apresentou também inibição de *Staphylococcus aureus*, resultado este que não foi obtido neste terceiro experimento. Outro microrganismo que também fora inibido na literatura em questão, foi a *Candida albicans* e a *Escherichia coli*, bactéria esta que também foi inibida com o mesmo composto no quarto e último experimento.

Sobre o quarto experimento, além das inibições que já foram citadas acima nesta discussão, houve também uma associação de compostos que apresentou ação antimicrobiana para a *Escherichia coli* e a *Klebsiella pneumoniae*, associação essa de $\text{ZrO}_2 + \text{TiO}_2$. De acordo com Mohr *et al.* ⁽³²⁾, essa associação apresentou inibição da *Escherichia coli*, concordando assim com este estudo em questão e ainda inibiu o

Staphylococcus aureus, que nesse experimento não fora testado. Ainda no estudo de Mohr *et al.* ⁽³²⁾, a descrição do mecanismo de ação do ZrO_2 é através da liberação de íons de zinco e no caso do TiO_2 , o mesmo possui capacidade de atravessar membranas externas, permitindo que o mesmo tenha a propriedade de matar ou até mesmo inibir o crescimento de microrganismos.

Ainda sobre o quarto experimento, o uso da radiação UV apresentou resultados esperados, principalmente quando comparado à literatura. De acordo com Silva *et al.* ⁽³³⁾, os resultados obtidos em seu estudo, quando em contato com a radiação UV foram divididos em totalmente inibitórios e parcialmente inibitórios, corroborando assim a este estudo. Isso porque a luz UV oferece ação germicida e é amplamente utilizada em descontaminações – tal radiação provoca mudanças foto bioquímicas que acaba por inviabilizar a vida dos microrganismos que entrarem em contato com ela.

Após estas considerações, é importante frisar que este estudo foi fundamental para analisarmos quais compostos apresentam resultados de inibição ou não de crescimento microbiano; qual material de cateter teve melhor resultado, tornando sua aplicabilidade viável para ser inserido nas rotinas laboratoriais.

Esses fatos deixam explícito a necessidade de mais estudos no futuro, a fim de testarmos mais variáveis como: associação de mais compostos que abrangem os dois tipos de microrganismos que estudamos – bactérias e fungos; materiais com fácil absorção para os compostos serem indexados no material no momento da fabricação ou materiais de fácil fixação dos compostos - além do silicone e aço já estudados; outras formas de fixação, por vezes menos extremas – como altas temperaturas; escopo de mais microrganismos que os compostos associados podem abranger; novas metodologias para testar o crescimento dos microrganismos – controlando tal

crescimento por mais de 48 horas (tempo de permanência do cateter), entre outros aspectos que possibilitem mais resultados inibitórios e menos resultados parciais.

CONCLUSÕES

5. Conclusões

- O composto: Ag (Prata) – apresentou ação antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*; os compostos: TiO_2 (Dióxido de Titânio) + Ag (Prata) e ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + Ag (Prata) – apresentaram ação antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*; o composto: ZnO (Óxido de Zinco) – *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida parapsilosis*; o composto: ZrO_2 (Dióxido de Zircônio) + TiO_2 (Dióxido de Titânio) – apresentou ação antimicrobiana à *Escherichia coli* e por fim, o composto: ZnO (Óxido de Zinco) + Ag (Prata) – apresentou ação antimicrobiana à *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*.
- Os resultados obtidos nos corpos de prova compostos por aço inoxidável, apresentaram a ação inibitória desejada para os microrganismos, diferente dos corpos de prova compostos por silicone.

- O processo de fixação e secagem dos compostos que foram indexados nos corpos de prova, revela ser um fator relevante para que a ação antimicrobiana ocorra, assim como a exposição direta do corpo de prova a radiação UV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. Referências Bibliográficas

1. **Cates - Centro Colaborador do SUS: Avaliação de Tecnologias & Excelência** em Saúde, 2011. Disponível em: <http://www.ccates.org.br/areas-tematicas/avaliacao-de-tecnologias-em-saude/>. Acesso: 15 ago. 2022.
2. VIANA, A. L. D.; et al. Saúde, desenvolvimento e inovação tecnológica: nova perspectiva de abordagem e de investigação. **Lua Nova**, v. 83, p. 41-77. 2011.
3. Rev Saúde Pública 2014;48(6):995-1001. **Infecções relacionadas à assistência à saúde: desafios para a saúde pública no Brasil**. Maria Clara Padoveze, Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza. Acesso em: 16 ago. 2022
4. NEVES, ÚRSULA. Acesso venoso periférico: Como dominar a técnica e o melhor tipo de curativo. **PEBMED**, [s. l.], p. 1, 2019.
5. SANTOS, L. M., CONCEIÇÃO, T. B., SILVA, C. S. G., TAVARES, S. S., ROCHA, P. K., AVELAR, A. F. M. Care related to peripheral intravenous catheterism in pediatrics performed by nursing technicians. *Rev Bras Enferm.* 2022;75(2):e20200611.

6. **Portal Arquivos.** Cuidados com acesso venoso, 2017. Disponível: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/21/10-Cuidados-com-Acesso-Venoso.pdf>. Acesso em: 18 ago. 2021.
7. TONIOLO, F.; CASABURI, L. Acessos Vasculares: Prevenção e cuidados de enfermagem. Residência Integrada Multiprofissional em Saúde, 2018. Disponível: https://intranet.ebserh.gov.br/documents/147715/393018/see_Aula_sobre_Flebite.pdf. Acesso em: 20 ago. 2021.
8. SOUZA, E. N., VIEGAS, K., CAREGNATO, R. C. A.. Manual de cuidados de enfermagem em procedimentos de intensivismo [recurso eletrônico] – Porto Alegre : Ed. UFCSPA, 2020. Recurso on-line (151 p.). Disponível em: https://www.ufcspa.edu.br/editora_log/download.php?cod=018&tipo=pdf. Acesso em: 30 ago. 2021.
9. BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medidas de prevenção de infecção relacionada à assistência à saúde.** Brasília: Anvisa, 2017. Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=pCiWUy84%2BR0%3D>. Acesso em: 26 ago. 2021.
10. HIGA, J. S. **Biofilmes bacterianos:** vivendo em comunidade [recurso eletrônico]. Departamento de Microbiologia da Universidade de São Paulo. 2019. Disponível em: <https://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de-divulgacao/bacteriologia/bacteriologia-oral/biofilmes-bacterianos-vivendo-em-comunidade/>. Acesso em: 26 ago. 2021.
11. NASCIMENTO, I. R.; SENA, T. L.. **Biofilmes Bacterianos:** Colonização e identificação de microrganismo causadores de infecção em cateter venoso central.

Orientador: Fabíola Fernandes Castro. 2017. 37 f. Iniciação Científica (Pós-graduação) - Centro Universitário de Brasília - UniCEUB, Brasília - DF, 2017.

12. SILVA, J. R. F. **Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a biomateriais**. Orientador: Professora Doutora Maria Pia Ferraz. 2015. 48 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa - Nova ET Nove, Porto, 2015.

13. TRENTIN, D. S., GIORDANI, R. B., & MACEDO, A. J.. **Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate**. *Revista Liberato*, 14(22), 213–236. 2013. Recuperado de <https://revista.liberato.com.br/index.php/revista/article/view/229>.

14. HIGA, J. S. **Biofilmes bacterianos: vivendo em comunidade**. Departamento de Microbiologia da Universidade de São Paulo. 2019. Disponível em: <https://microbiologia.icb.usp.br/cultura-e-extensao/textos-de-divulgacao/bacteriologia/bacteriologia-oral/biofilmes-bacterianos-vivendo-em-comunidade/>. Acesso em: 27 ago. 2021.

15. SILVA, J. R. F. **Importância da formação de biofilmes nas infecções associadas a biomateriais**. Orientador: Professora Doutora Maria Pia Ferraz. 2015. 48 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa - Nova ET Nove, Porto, 2015.

16. BIOFILMES bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, ano 2013, v. 14, n. 22, p. 113-238, 15 dez. 2013. DOI 10.31514/rliberato.2013v14n22.p213.

17. GUIMARÃES, P. D. C.; VIEIRA, F.O. **A Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC): Bactérias multirresistentes**. 2002. 11 f. Artigo (Bacharelado) - Centro

Universitário Metodista Izabela Hendrix, Minas Gerais, 2002.

18. AQUINO, M. S.; SILVA, C. M.. **Staphylococcus Aureus e sua importância no âmbito das infecções hospitalares**: Revisão da literatura. 2022. 7 f. Dissertação (Bacharelado) - Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz, Cascavel - PR, 2022.

19. ERCOLE, F. F., et al. Revisão integrativa: evidências na prática do cateterismo urinário intermitente/demora. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 21, p. 1. 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/rlae/v21n1/pt_v21n1a23.pdf. Acesso em: 28 ago. 2021

20. MARCONI, C. et al. Comparison between qualitative and semiquantitative catheter-tip cultures: laboratory diagnosis of catheter-related infection in newborns. *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. 2008, v. 39, n. 2, pp. 262-267.

21. SANFELICE, R, C.; PAVINATTO, A.; CORRÊA, D. S. **Introdução à Nanotecnologia**. [S. l.: s. n.], 2020. cap. 1, p. 27-47.

22. ARAÚJO, B. T.; PEREIRA, D. C. R. **Políticas para controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) no Brasil, 2017**. 2017. 10 f. Artigo de Revisão (Bacharelado) - Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Brasília - DF, 2017.

23. O que os hospitais estão fazendo para prevenção de infecção associada a cateter e dispositivos? **Instituto Brasileiro para Segurança do Paciente – IBSP**. Maio 2019. Disponível em: <https://segurancadopaciente.com.br/qualidade-assist/o-que-os-hospitais-estao-fazendo-para-prevencao-de-infeccao-associada-a-cateter-e-dispositivos/>. Acesso em: 21 set. 2021.

24. KURTZ, P. et al. Cateter venoso profundo recoberto com antibiótico para reduzir infecção: estudo piloto. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva** [online]. 2008, v. 20, n. 2, pp. 160-164.

25. FREIRE, N. B.; PIRES, L. C. S. R.; OLIVEIRA, H. P.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata sobre isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de organismos aquáticos. **Pesq. Vet. Bras.**, [S. l.], ano 2018, v. 38, n. 2, p. 244-249, 28 fev. 2018.
26. MEDIDAS de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa**, Brasília - DF, ano 2013, 1. ed. p. 1-90, 2013. Série: Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde.
27. **Aço à prova de microrganismos**. 66. ed. [S. l.], Julho 2001. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/aco-a-prova-de-microrganismos/>. Acesso em: 22 nov. 2022.
28. 57º CONGRESSO BRASILEIRO DE CERÂMICA & 5º CONGRESSO IBEROAMERICANO DE CERÂMICA, 57º / 5º., 2013, Natal - RN. **Obtenção de nanopartículas a base de zircônia e prata pelo método Pechini para aplicação bactericida em microorganismos como a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*** [...]. Pinheiro - MA: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2013. 1 p.
29. VÁZQUEZ, G., FERNANDO, A.. **Avaliação de propriedades físico-químicas, mecânicas e antimicrobianas do MTA e Cimento Portland associado a solução de nanopartículas de prata**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”: Faculdade de Odontologia de Araraquara, Araraquara - SP: [s.n.], 2014.
30. ARAB, F. E.. **Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinco, óxido de cobre e prata em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas**. Orientador: Marcos David Ferreira e Clovis W. Oliveira de Souza. 2018. 95

f. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2018.

31. SOUSA, M. E. B.; REMIRO, P. F. R.; BERNARDO, A.; AGUIAR, M. L. Síntese, caracterização e avaliação do poder antimicrobiano do nanocompósito Ag/TiO₂. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, [s. l.], ano 2020, v.6, n. 5, p. 1-7, São Carlos-SP, 2020.

32. MOHR, C.; CAPELEZZO, A. P.; RIPPEL, T.; TERNUS, R. Z.; DALCANTON, F.; FIORI, M. A.; MELLO, J. M. M. Efeito antimicrobiano de nanopartículas de ZnO e TiO₂ frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. **CSBEA**, [s. l.], ano 2017, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2017.

33. Silva AL, Serra EF, Ripoll MK, Waller SB, Osório L da G, Gomes A dos R, et al. Luz Ultravioleta na Inibição do Crescimento de Leveduras. *Science and Animal Health* [Internet]. 2017 May 27 [cited 2023 Apr 5];101–11. Available from: file:///C:/Users/thais/Downloads/10051-43375-3-PB.pdf

Figuras:

Figura 1 – Acesso venoso periférico.

Qual local puncionar. Disponível: <https://i.ytimg.com/vi/tb9vD2fca6U/maxresdefault.jpg>. Acesso em: 30 ago. 2021.

Figura 2 – Acesso venoso central.

Acesso venoso central. Disponível: https://uploads-ssl.webflow.com/5f7c5ad0f02de81be2e6417c/5fdd1e6f92ec1f253724dc25_Imagem%202%20texto%20Ellen.png. Acesso em: 30 ago. 2021.

Figura 3 – Five stages of biofilm development.

Five stages of biofilm development. Disponível:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:OSC_Microbio_02_03_Biofilms.jpg. Acesso em: 30 ago. 2021.

Figura 9 – Método semi quantitativo de Maki.

Coleta, transporte e processamento de amostras. Disponível em:

<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fslideplayer.com.br%2Fslide%2F3769479%2F&psig=AOvVaw30LqZzj8Vd104xtk7MDHzi&ust=1637710594998000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsQjRxqFwoTCKDoudSRrfQCFQAAAAAdAAABAD>. Acesso em: 20 set. 2021.

Figura 21 – Semeadura com alça de Drigalski.

Espalhador de células (alça de Drigalski) descartável. Disponível em:

<http://www.mpllaboratorios.com.br/MaisProduto.asp?Produto=286>. Acesso em: 22 nov. 2022.