UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM DE RIBEIRÃO PRETO

KAOAN DOCA DE SÁ CARVALHO

**Material cimentício fotocatalítico com atividade antimicrobiana:
avanços e desafios no ambiente da área da saúde**

RIBEIRÃO PRETO
2021

KAOAN DOCA DE SÁ CARVALHO

Material cimentício fotocatalítico com atividade antimicrobiana: avanços
e desafios no ambiente da área da saúde

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa
de Pós-Graduação em Enfermagem Fundamental.

Linha de pesquisa: Fundamentação teórica,
metodológica e tecnológica do processo de cuidar.

Orientador: Prof. Dr. Evandro Watanabe

RIBEIRÃO PRETO
2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Carvalho, Kaoan Doca de Sá

Material cimentício fotocatalítico com atividade antimicrobiana: avanços e desafios no ambiente da área da saúde. Ribeirão Preto, 2021.

39 p. : il. ; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Enfermagem Fundamental.

Orientador: Evandro Watanabe

1. Antimicrobiano. 2. Cimento. 3. Dióxido de titânio. 4. Fotocatalítico.

CARVALHO, Kaoan Doca de Sá

Material cimentício fotocatalítico com atividade antimicrobiana: avanços e desafios
no ambiente da área da saúde

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa
de Pós-Graduação em Enfermagem Fundamental.

Aprovado em / /

Presidente

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Comissão Julgadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus avós maternos por todo acolhimento, carinho e ensinamentos desde o meu primeiro suspiro.

Aos meus pais por toda educação e apoio desde o meu primeiro suspiro.

À minha namorada Hannah Ap. dos Santos Freitas, por todos os momentos que estive ao meu lado, dando apoio e ótimos conselhos. Obrigado pelo ato de cuidar, pela paciência, compreensão e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sabedoria, força e coragem para trilhar mais um caminho.

Ao Programa de Pós-graduação em Enfermagem Fundamental da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP-USP).

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Ao Prof. Dr. Evandro Watanabe, pela oportunidade de trabalhar em conjunto, pelo acolhimento e auxílio em toda essa jornada, com seus excelentes conselhos para a vida pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Hebert Luis Rossetto, por cada conversa, incentivo e ajuda que foram dadas desde a graduação até os dias de hoje.

À Prof. Dra. Denise de Andrade, pela amizade, risadas, ensinamentos e esclarecimentos. Por me aceitar e acolher no Núcleo de Estudos de Prevenção e Controle de Infecção nos Serviços de Saúde (NEPECISS) da EERP-USP. Agradeço também por ter participado da minha banca do Exame de Qualificação do Mestrado e contribuído com ótimas sugestões para a melhoria da minha pesquisa.

Ao André Pereira dos Santos por todas as conversas, pelo auxílio a respeito das coisas da vida, ajudas e correções da dissertação, a calma que me foi passada, na tranquilização nos momentos em que existia aflição, pelo carinho, bondade e por estar presente em minha vida.

Aos membros do NEPECISS pelo convívio que construímos dentro e fora do laboratório, obrigada por cada risada, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas.

Aos meus amigos de laboratório, Álvaro Francisco Lopes de Sousa, Artur Acelino Francisco Luz Queiroz, Felipe Lazarini Bim, Guilherme Schneider, Lucas Lazarini Bim, Marinila Buzanelo Machado, Pedro Castania Amadio Domingues e Rachel

Maciel Monteiro pelos momentos, ensinamentos e conhecimento compartilhado. A ajuda de vocês foi essencial nessa jornada.

A minha namorada por toda paciência e colaboração.

Aos meus familiares, que me apoiaram em mais uma jornada.

Deixo aqui meu sincero reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de pessoas que me fizeram crescer e que disponibilizaram conhecimento, sabedoria, serenidade e didática.

APOIO FINANCEIRO

PROEX – Programa de Excelência Acadêmica da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Bolsa de Mestrado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – (133916/2019-7).

RESUMO

CARVALHO, Kaoan Doca de Sá. **Material cimentício fotocatalítico com atividade antimicrobiana: avanços e desafios no ambiente da área da saúde**. 2021. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

O material cimentício com dióxido de titânio (TiO₂) pode representar uma opção viável devido suas propriedades fotocatalítica, autolimpante e antimicrobiana no ambiente da área da saúde. O objetivo desta pesquisa foi determinar os avanços e desafios da atividade antimicrobiana do material cimentício fotocatalítico com TiO₂, no que concerne a possível aplicabilidade no ambiente da área da saúde. Uma revisão integrativa foi efetuada acerca da possível aplicabilidade do material cimentício fotocatalítico com TiO₂ no ambiente da área da saúde. Além disso, a atividade antibacteriana de soluções aquosas e material cimentício fotocatalítico com TiO₂ em diferentes concentrações e exposições a radiações luminosas foram avaliadas, por meio da técnica de difusão em camada dupla de ágar. A revisão integrativa foi realizada no portal *PubMed* e nas bases *Web of Science*, SCOPUS, EMBASE e *Engineering Village* com a inclusão de estudos primários quanto a temática, publicados online até março de 2021, em português e inglês. A etapa experimental / laboratorial foi realizada em triplicata com o emprego da cepa padrão *Escherichia coli* (ATCC 25922) e as soluções aquosas e material cimentício fotocatalítico com TiO₂ em diferentes concentrações (0, 5 e 15%) e exposições às radiações ultravioleta A (UV-A) a 15W e 365nm e diodo emissor de luz (LED) a 18W durante 8 e 10h. Cabe salientar que houve a inclusão de solução de clorexidina a 0,12% e amostras submetidas à ausência de exposição à radiação luminosa (escuro) como controles experimentais. Na técnica de difusão em camada dupla de ágar, *Mueller Hinton Agar* foi distribuído em placas de Petri (90x15mm) esterilizadas formando uma camada base de 12,0mL. Após a solidificação do meio de cultura, 8,0mL de *Mueller Hinton Agar* contendo 10⁶UFC/mL do inóculo bacteriano foi distribuído sobre a camada base para formar a camada *seed*. Em seguida, em cada placa foram confeccionados poços para adição de 20,0μL das soluções ou dos espécimes do material cimentício fotocatalítico. Decorrido os períodos pré-incubação das amostras à temperatura ambiente por 2h, as placas foram incubadas a 37°C por 24h e a leitura dos diâmetros dos halos de inibição (mm) mensurada. Na revisão integrativa, os resultados mostraram um total de sete estudos primários com diferentes metodologias microbiológicas *in vitro*, concentrações e exposições a radiações luminosas de soluções e materiais cimentícios fotocatalíticos. Em referência à etapa experimental / laboratorial, não houve atividade antibacteriana conclusiva de qualquer solução ou material cimentício fotocatalítico com TiO₂, apesar de alguns resultados terem demonstrado halos de inibição tênues ao redor de algumas amostras do material cimentício fotocatalítico. Em conclusão, não há consenso na literatura científica acerca da atividade antimicrobiana de material cimentício fotocatalítico com TiO₂. Ainda, conforme a metodologia empregada neste estudo, a atividade contra *E. coli* das soluções aquosas e do material cimentício fotocatalítico com TiO₂ não foi evidenciada, sendo que avanços e desafios no controle de contaminação e risco de infecção microbiana no ambiente da área da saúde continuam.

Palavras-chave: Antimicrobiano; Cimento; Dióxido de Titânio; Fotocatalítico.

ABSTRACT

CARVALHO, Kaoan Doca de Sá. **Photocatalytic cement material with antimicrobial activity**: advances and challenges in the healthcare environment. 2021. 39 f. Dissertation (Master in Science) - School of Nursing of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

The cementitious material with titanium dioxide (TiO₂) may represent a viable option due to its photocatalytic, self-cleaning and antimicrobial properties in the healthcare environment. The objective of this research was to determine the advances and challenges of the antimicrobial activity of the photocatalytic cement material with TiO₂, with regard to the possible applicability in the health area. An integrative review was carried out on the possible applicability of the photocatalytic cement material with TiO₂ in the healthcare environment. In addition, the antibacterial activity of aqueous solutions and photocatalytic cementitious material with TiO₂ in different concentrations and exposures to light radiation were evaluated using the double layer agar diffusion technique. The integrative review was carried out on the *PubMed* portal and on the *Web of Science*, SCOPUS, EMBASE and *Engineering Village* databases with the inclusion of primary studies on the subject, published online until March 2021, in Portuguese and English. The experimental / laboratory stage was carried out in triplicate using the standard strain *Escherichia coli* (ATCC 25922) and aqueous solutions and photocatalytic cement material with TiO₂ in different concentrations (0, 5 and 15%) and radiation exposures to ultraviolet A (UV-A) at 15W and 365nm and light emitting diode (LED) at 18W for 8 and 10am. It should be noted that there was the inclusion of 0.12% chlorhexidine solution and samples subjected to the absence of exposure to light radiation (dark) as experimental controls. In the double agar diffusion technique, Mueller Hinton Agar was distributed in sterile Petri dishes (90x15mm) forming a base layer of 12.0mL. After solidification of the culture medium, 8.0mL of Mueller Hinton Agar containing 10⁶CFU/mL of the bacterial inoculum was distributed onto the base layer to form the seed layer. Then, in each plate, wells were made to add 20.0μL of the solutions or specimens of the photocatalytic cement material. After the pre-incubation periods of the samples at room temperature for 2h, the plates were incubated at 37°C for 24h and the reading of the diameter of the inhibition halos (mm) was measured. In the integrative review, the results showed a total of seven primary studies with different *in vitro* microbiological methodologies, concentrations, and exposures to light radiation of solutions and photocatalytic cement materials. In reference to the experimental / laboratory stage, there was no conclusive antibacterial activity of any solution or photocatalytic cement material with TiO₂, although some results have shown faint inhibition halos around some samples of the photocatalytic cement material. In conclusion, there is no consensus in the scientific literature about the antimicrobial activity of photocatalytic cement material with TiO₂. Moreover, according to the methodology used in this study, the activity against *E. coli* from aqueous solutions and the photocatalytic cement material with TiO₂ was not evidenced, and advances and challenges in the contamination control and microbial infection risk in the health area continue.

Keywords: Antimicrobial; Cement; Titanium dioxide; Photocatalytic.

RESUMEN

CARVALHO, Kaoan Doca de Sá. **Material de cemento fotocatalítico con actividad antimicrobiana**: avances y desafíos en el entorno sanitario. 2021. 39 h. Disertación (Maestría en Ciencias) - Escuela de Enfermería de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

El material de cemento con dióxido de titanio (TiO_2) puede representar una opción viable debido a sus propiedades fotocatalíticas, autolimpiantes y antimicrobianas en el entorno sanitario. El objetivo de esta investigación fue determinar los avances y desafíos de la actividad antimicrobiana del material de cemento fotocatalítico con TiO_2 , en cuanto a la posible aplicabilidad en el área de la salud. Se realizó una revisión integradora sobre la posible aplicabilidad del material de cemento fotocatalítico con TiO_2 en el entorno sanitario. Además, se evaluó la actividad antibacteriana de soluciones acuosas y material cementoso fotocatalítico con TiO_2 en diferentes concentraciones y exposiciones a radiación lumínica mediante la técnica de difusión de agar doble capa. La revisión integradora se realizó en el portal *PubMed* y en las bases de datos *Web of Science*, SCOPUS, EMBASE e *Engineering Village* con la inclusión de estudios primarios sobre el tema, publicados en línea hasta marzo de 2021, en portugués e inglés. La etapa experimental / de laboratorio se realizó por triplicado utilizando la cepa estándar *Escherichia coli* (ATCC 25922) y soluciones acuosas y material de cemento fotocatalítico con TiO_2 en diferentes concentraciones (0, 5 y 15%) y exposiciones a radiación ultravioleta A (UV-A) a 15W y 365nm y diodo emisor de luz (LED) a 18W durante 8h y 10h. Cabe señalar que se incluyó como controles experimentales una solución de clorhexidina al 0,12% y muestras sometidas a ausencia de exposición a radiación luminosa (oscura). En la técnica de difusión de agar doble capa, el *Mueller Hinton Agar* se distribuyó en placas de Petri estériles (90x15 mm) formando una capa base de 12,0mL. Después de la solidificación del medio de cultivo, se distribuyeron 8,0mL de *Mueller Hinton Agar* que contenían 10^6 UFC/mL del inóculo bacteriano sobre la capa base para formar la capa *seed*. Luego, en cada placa, se hicieron pocillos para agregar 20,0μL de las soluciones o muestras del material cementoso fotocatalítico. Tras los periodos de preincubación de las muestras a temperatura ambiente durante 2h, las placas se incubaron a 37°C durante 24h y se midió la lectura del diámetro de los halos de inhibición (mm). En la revisión integradora, los resultados arrojaron un total de siete estudios primarios con diferentes metodologías microbiológicas *in vitro*, concentraciones y exposiciones a radiación lumínica de soluciones y materiales cementosos fotocatalíticos. En referencia a la etapa experimental / de laboratorio, no hubo actividad antibacteriana concluyente de ninguna solución o material de cemento fotocatalítico con TiO_2 , aunque algunos resultados han mostrado leves halos de inhibición alrededor de algunas muestras del material de cemento fotocatalítico. En conclusión, no existe consenso en la literatura científica sobre la actividad antimicrobiana del material de cemento fotocatalítico con TiO_2 . Aun así, de acuerdo con la metodología utilizada en este estudio, no se evidenció la actividad contra *E. coli* de soluciones acuosas y el material de cemento fotocatalítico con TiO_2 , y continúan los avances y desafíos en el control de la contaminación y riesgo de infección microbiana en el área de salud.

Palabras clave: Antimicrobiano; Cemento; Dióxido de titanio; Fotocatalítico.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISTA DA LITERATURA.....	14
2 OBJETIVOS.....	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
4 RESULTADOS.....	27
5 DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	35

1 INTRODUÇÃO

Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são todas as infecções ocorridas no ambiente da área da saúde, sejam elas por relações entre pessoa-ambiente ou pessoa-pessoa. Assim, devem ser consideradas como pessoas, os pacientes, visitantes/familiares e os profissionais da área da saúde. Já no contexto do ambiente, há de se levar em conta a estrutura física do local (superfícies) e os fômites. Dentre as principais consequências das IRAS, destacam-se a elevação dos níveis de incidência de morbimortalidade, bem como o aumento no tempo de internação e nos custos assistenciais (LEONCIO *et al.*, 2019).

Somado a este cenário, a prescrição inadequada e/ou o uso indiscriminado de antimicrobianos pode(m) selecionar cepas microbianas resistentes. Deste modo, com o passar do tempo, os micro-organismos serão cada vez menos impactados pelas terapias antimicrobianas convencionais e, por conseguinte, poderá suceder sérios agravamentos das IRAS (BARCHITTA *et al.*, 2019; CIŽMAN; PLANKAR SROVIN, 2018).

Desde a antiguidade e em escala mundial, a problemática das doenças infecciosas mobiliza a atenção de pesquisadores, órgãos e associações de saúde na tentativa de prevenir e controlar a ocorrência das infecções no ambiente de assistência à saúde. Neste contexto, o crescimento alarmante da resistência microbiana a diversos antimicrobianos (BARCHITTA *et al.*, 2019; CIŽMAN; PLANKAR SROVIN, 2018) exige cada vez mais uma busca por inovações e tecnologias na área da saúde, que sejam de baixo custo, não promovam maior resistência por parte desses micro-organismos, bem como problemas ao meio ambiente e, sobretudo, permitam a manutenção de um ambiente biologicamente seguro.

Cabe destacar entre as diversas estratégias para o controle da contaminação ambiental, um material nanométrico inorgânico e catalítico denominado de dióxido de titânio (TiO₂), o qual pode apresentar três formas distintas de cristalização: rutilo, anatase e brookita (JAIN; VAYA, 2017). Dentre elas, a anatase tem demonstrado estabilidade química, ausência de toxicidade e propriedade fotocatalítica, ou seja, elevada atividade oxidante quando exposta à radiação ultravioleta (UV) – (LACEY; SCHIRMER, 2008; LIU *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019; PAPOULIS *et al.* 2018.). Os materiais fotocatalíticos são compostos que, sob a incidência da radiação solar, aceleram a ocorrência de reações químicas e produzem agentes oxidantes fortes, que

são capazes de transformar espécies poluentes (benzeno, tolueno, etil benzeno e xilenos) em subprodutos inofensivos (CASSAR, 2011). Essas reações se caracterizam como processos oxidativos avançados e merecem destaque, pois degradam compostos orgânicos com baixo custo operacional e de forma sustentável ao longo do tempo (JAIN; VAYA, 2017). Pesquisas científicas indicam que as nanopartículas de TiO_2 exibem intensa atividade antimicrobiana em decorrência do elevado índice de refração e propriedade de brancura, especialmente, na forma anatase (BARANWAL *et al.*, 2018).

Apesar de não substituir a rotina de limpeza e desinfecção do ambiente da área da saúde, o emprego do TiO_2 pode contribuir com o controle de contaminação, as reduções dos custos com materiais de limpeza e de carga de trabalho da equipe de limpeza/manutenção, devido a sua capacidade fotocatalítica e de autolimpeza.

Segundo Reid *et al.* (2018), soluções de TiO_2 foram utilizadas em diferentes superfícies (trilho, estribo e controle de cama, bem como armário de cabeceira e mesa) de enfermarias de um hospital. Os resultados deste estudo mostraram redução na carga microbiana das superfícies com as soluções de TiO_2 em comparação com as superfícies sem TiO_2 .

No que tange os materiais cimentícios fotocatalíticos constituídos de TiO_2 , acredita-se que até o momento não há consenso na literatura científica sobre as suas possíveis aplicabilidades práticas no ambiente da área da saúde, que avancem no controle de contaminação/infecção e, ao mesmo tempo, sejam viáveis financeiramente.

Neste sentido, uma revista da literatura atrelada a experimentos microbiológicos *in vitro* são fundamentais para elucidar os questionamentos acerca da possível aplicabilidade de materiais cimentícios fotocatalíticos constituídos de TiO_2 , com vistas à manutenção de um ambiente biologicamente seguro.

2 REVISTA DA LITERATURA

Esta revista de literatura foi desenvolvida com o intuito de aprofundar o conhecimento acerca da atividade antimicrobiana do dióxido de titânio (TiO_2) e dos materiais fotocatalíticos constituídos de TiO_2 .

Guo, Ling, Poon (2012) investigaram as atividades fotocatalíticas de argamassas de vidro autocompactáveis à base de nano- TiO_2 (misturadas) – (SCGM) para a remoção de óxido de nitrogênio e destruição bacteriana. Diferentes concentrações de nano- TiO_2 (0%, 2% e 5%) referentes ao peso da matéria foram incorporadas ao cimento branco comum com vidro reciclado nas cores verde claro e transparente para avaliação da atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* K12. As amostras foram colocadas em uma prateleira no centro de um reator, que continha duas lâmpadas fluorescentes posicionadas paralelamente entre si e geradoras de radiação ultravioleta A (UV-A) – (TL 8W / 08 BLB) com comprimento de onda de intensidade máxima de 365nm (300 a 400nm). Ainda, a umidade e a qualidade do ar na cabine foram controladas para a avaliação da atividade antibacteriana. Na superfície do material cimentício, 1mL do inóculo bacteriano foi adicionado. Após diferentes intervalos de tempo de exposição à radiação UV, cada coleta de amostra foi realizada com o enxágue de 20mL de solução salina a 0,9%. As amostras *in natura* e diluídas foram semeadas em placas de Petri com ágar nutriente e incubadas. A adição de TiO_2 no material cimentício interferiu na fluidez da mistura, nas cores das partículas de vidro utilizadas na mistura, bem como na capacidade de absorção da radiação UV e, conseqüentemente, na remoção do óxido de nitrogênio. As amostras apresentaram reduzida atividade contra *E. coli* após 120min de radiação UV, independentemente do tipo de vidro ou concentração de TiO_2 empregado. Por outro lado, ao revestir as amostras cimentícias com TiO_2 por imersão, a atividade fotocatalítica foi aumentada e, após 60min de radiação UV, a carga bacteriana foi eliminada. Em suma, o método de revestimento do TiO_2 interferiu diretamente na sua antibacteriana. Em adição, os achados corroboram com outros estudos e sinalizam que a reação fotocatalítica exercida pelo TiO_2 não pode ser extrapolada para a inativação biológica, uma vez que se trata de um processo muito complexo e dependente de outros fatores para ocorrer.

Bonetta *et al.* (2013) avaliaram a atividade antibacteriana de superfícies revestidas com TiO e fotoativadas. Para isso, dois tipos de superfícies foram revestidos com TiO₂: placas de Petri e ladrilhos de cerâmica. As placas de Petri foram lavadas com água e etanol, sendo que em seguida, o fundo delas foi recoberto com uma solução aquosa de TiO₂ a 1mg/cm² e seco a temperatura ambiente. As placas de Petri foram incubadas a 150°C por 1h para fixar as partículas de TiO₂. Além disso, os ladrilhos cerâmicos foram revestidos com TiO₂. Para os experimentos relacionados à atividade antibacteriana, os dois tipos de amostras foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15min e divididos em 4 grupos experimentais: BN (exposição ao escuro e sem TiO₂), BE (exposição à radiação UV e sem TiO₂), TN (exposição ao escuro e com TiO₂) e TE (exposição à UV com TiO₂). A atividade antibacteriana das superfícies revestidas com TiO₂ foi avaliada em uma câmara de exposição. Nesta câmara, a fonte de radiação UV-A (comprimento de onda 350-380nm com irradiância na superfície da amostra de 9 W/m², Philips) foi colocada a 10,3cm do topo da placa de Petri, e a temperatura durante os experimentos foi estabilizada com auxílio de um sistema de ventilação. Uma alíquota (100µL) de uma suspensão bacteriana (10⁴ UFC/ml) ressuspensa em 400µL de água desionizada esterilizada foi adicionada às placas de Petri. Os períodos de exposição para as placas de Petri foram de 180 e 300min para *Escherichia coli* e de 30, 60 e 180min para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida* e *Listeria innocua*. Já para os ladrilhos de cerâmica, os períodos de exposição foram de 20, 30, 60 e 180min para todas as bactérias citadas anteriormente. Contra: *E. coli*, nenhuma e uma pequena quantidade de bactérias foi recuperada das amostras de TE e BE, bem como BN e TN, após 300min de exposição, respectivamente; *S. aureus*, uma redução na carga bacteriana foi observada em todas as amostras após 180min de exposição, no entanto o melhor resultado antibacteriano foi o relacionado ao TiO₂ exposto por 60min; *P. putida*, a maior atividade antibacteriana foi reportada com TE a 30min de exposição. Em conclusão, não houve diferença entre as atividades antibacterianas das placas de Petri e os ladrilhos cerâmicos, com exceção para *P. putida*. Portanto, as superfícies revestidas com TiO₂ mostraram atividade antibacteriana contra todas as bactérias avaliadas, e o uso do TiO₂ pode ser promissor na indústria cerâmica e de construção para o revestimento de superfícies hospitalares e da indústria alimentícia.

Guo, Ling, Poon (2013) compararam as atividades fotocatalíticas de

argamassas de vidro autoadensáveis com TiO_2 (SCGMs) e vidro com TiO_2 em termos de remoção de poluentes do ar e a inibição do crescimento bacteriano. Para isso, produziram sete diferentes tipos de amostras cilíndricas (1x7,5cm): 1) SCGM sem TiO_2 ; 2) SCGM com TiO_2 a 5%; 3) vidro sem TiO_2 ; 4) vidro revestido por imersão com TiO_2 em etanol e glicerol, bem como calcinado a 450°C por 120min; 5) vidro revestido por imersão com TiO_2 em metanol com secagem a 60°C por 120min; 6) SCGM revestida por imersão com TiO_2 em etanol e glicerol, bem como calcinada a 450°C por 120min; 7) SCGM revestida por imersão com TiO_2 em metanol com secagem a 60°C por 120min. Cada uma das amostras foram colocadas em placas de Petri com 1mL de suspensão de inóculo bacteriano (*E. coli* K12). As placas foram expostas à radiação luminosa conferida por lâmpadas ultravioletas (UV) de intensidade de 10W/m². Em seguida, a carga bacteriana foi avaliada em triplicada com a semeadura das amostras em placas de Petri com ágar nutriente (incubação a 37°C por 18h), após 20, 40, 60, 90 e 120min das exposições luminosas. A inibição total de *E. coli* nas amostras de vidro e de SCGM com TiO_2 foram observadas em um curto período (60min), após a radiação UV. Entretanto, nas demais amostras não foram evidenciadas redução na carga bacteriana. Em conclusão, fatores relacionados a porosidade e rugosidade do substrato, bem como a maneira de incorporação do TiO_2 sobre o material foram fundamentais no processo fotocatalítico e, por conseguinte, a atividade antibacteriana.

Em 2015, Guo, Maury-Ramirez e Poon compararam a aplicabilidade de uma tinta contendo TiO_2 na superfície de argamassas arquitetônicas autoadensáveis (SCAM) com SCAM contendo TiO_2 a 5%. As amostras de argamassa foram preparadas em camadas finas (20x10x0,5cm) e discos ($\pm 7,5 \times 0,7$ cm) para os experimentos fotocatalíticos. A cura das amostras foi de 28 dias em condições ambientais a 25°C e 50% de umidade relativa, antes do início dos experimentos. As SCAM com TiO_2 a 5% foram confeccionadas com base no peso dos materiais cimentícios. Além disso, para as amostras de SCAM revestidas com três camadas de tinta (secas em temperatura ambiente e umidade por cerca de 15min entre a aplicação das sucessivas camadas), o TiO_2 a 10% em relação ao peso da tinta foi utilizado. Notou-se uma inibição total de *E. coli* após a exposição à radiação UV-A por 120min para o SCAM revestido com TiO_2 . O SCAM com TiO_2 incorporado ao material cimentício não demonstrou qualquer atividade antibacteriana contra *E. coli*. Com base nos resultados deste estudo concluiu-se que os materiais SCAM revestidos com TiO_2

mostraram atividade antibacteriana apesar de um custo maior para sua produção. No entanto, o valor agregado deste produto pode reduzir os custos diários de manutenção destas superfícies ambientais.

Ganji *et al.* (2016) objetivaram a síntese de nanopartículas de TiO_2 (NPs- TiO_2) pela técnica sol-gel e em seguida, criaram amostras de um material cimentício com TiO_2 NPs a 1, 5 e 10% em peso para avaliar a atividade antimicrobiana contra *E. coli*, a partir da exposição à radiação ultravioleta (UV). As amostras de cimento contendo NPs- TiO_2 exibiram melhores propriedades fotocatalíticas do que aquelas com TiO_2 puro expostas à irradiação UV. A redução na carga bacteriana foi baixa quando as amostras de cimento com NPs- TiO_2 foram mantidas no escuro. Ainda, as amostras de cimento contendo NPs- TiO_2 nas diferentes concentrações mostraram atividade antibacteriana ao serem expostas à irradiação UV. Ressaltou-se que o aumento na concentração das NPs- TiO_2 nas amostras de cimento reduziu a carga de *E. coli*. Ademais, a concentração necessária de TiO_2 no cimento foi menor do que o TiO_2 puro com relação à atividade antibacteriana. Em suma, melhorias nas propriedades fotocatalíticas foram reportadas com o acréscimo nas concentrações do TiO_2 no cimento, entretanto a formulação de TiO_2 a 5% foi a recomendada baseada na atividade antibacteriana e custo-benefício. Ainda, as amostras de NPs- TiO_2 apresentaram potencial aplicabilidade em superfícies cimentícias em função da atividade antibacteriana.

Loh, Gaylarde, Shirakawa (2018) determinaram a escala necessária das suspensões de nanopartículas comerciais de titânio e zinco para o uso em autolimpeza e proteção de fachadas de cimento. Como material cimentício de teste empregaram: revestimento de cimento branco e filler calcário (1:1); nanomaterias: partículas de 80 a 200nm de n-ZnO e n- TiO_2 . Quatro concentrações de n-ZnO e n- TiO_2 (0,5%, 1,0%, 1,5% e 3,0%) foram preparadas em 100mL de azul de metileno aquoso a 0,03g/L e em azul de metileno a 0,03g/L saturado com hidróxido de cálcio, visando simular a alcalinidade do novo cimento produzido. As soluções foram expostas à radiação UV por 9h em uma câmara contendo uma lâmpada Phillips HPL-N e bulbo de mercúrio de alta pressão, sendo que, em seguida, incorporadas ao revestimento à base de cimento a 4%. A atividade antifúngica contra *Cladosporium* foi realizada a partir de cultura de 72h em solução de glicose a 0,1% esterilizada para a obtenção de inóculo padronizado

de 10^7 esporos/mL). avaliado por testes microbiológicos padrão em placas de Petri e por um teste laboratorial acelerado usando painéis de gesso: lâminas de vidro foram revestidas com 9,6g de gesso. 1mL de 0,4g/10mL de nanopartículas de ZnO ou TiO₂ foi aplicado com uma micropipeta. Quando seco, uma gota (50µL) de uma suspensão de esporos foi colocado no meio da lâmina revestida. Após secagem a 42°C por 24h, as lâminas foram expostas às seguintes condições: 1) irradiação solar natural; 2) uma lâmpada Phillips HPL-N 125W; 3) escuridão produzida por cobertura com folha de alumínio. As lâminas foram incubadas em câmara úmida 3 a 25°C por 14 dias, com ciclos alternados de 12h de luz e 12h de escuro. Em seguida, foram examinados em microscópio petrográfico e por microscopia digital em microscópio Hirox. Ficou concluído que as suspensões de partículas de ZnO e TiO₂ apresentaram atividade antifúngica, indicada pelo teste de descoloração com azul de metileno e teste de biodeterioração acelerada in vitro, mesmo na ausência de luz. ZnO foi mais eficiente do que TiO₂. Muitas das partículas em ambas as suspensões estavam fora do tamanho indicado para nanopartículas e seriam mais corretamente classificadas como micropartículas.

Verdier *et al.* (2018) avaliaram as atividades antibacteriana e antibiofilme de um revestimento fotocatalítico semitransparente exposto a baixa radiação luminosa contra *E. coli*, por meio da determinação da carga bacteriana e de microscopias de epifluorescência e eletrônica de varredura. Dois revestimentos semitransparentes foram formulados com água e resina acrílica. A formulação continha em peso, TiO₂ a 5%, resina acrílica a 2% e água a 93%. Ainda, um revestimento controle foi formulado com resina acrílica a 2% e água a 98%, em peso. Os revestimentos foram usados em três superfícies diferentes: lâminas de vidro de microscópio (26x76mm), membranas de filtração em polycarbonato isopore hidrofílico (Millipore, 47mm de diâmetro com poros de 0,4µm) e matrizes cimentícias feitas em moldes cilíndricos (diâmetro de 2,8 cm e espessura de 1 cm) com pasta de cimento Portland comum (relação água/cimento de 0,55). As amostras cimentícias foram desmoldadas após 24h e armazenadas por 27 dias em uma câmara de umidade (100% de umidade relativa à temperatura ambiente). Após esses 28 dias, as amostras foram colocadas em um reator de borossilicato por operação de lixiviação para redução do pH das amostras cimentícias (pH=13, inicial) para sete, decorrido 15 dias. Por fim, as amostras foram lavadas com água destilada e armazenadas. Antes dos experimentos, as amostras

foram recobertas com os revestimentos (TiO₂ ou revestimento controle). Ainda, a exposição à radiação ultravioleta (UV) a 5W/m² dos materiais foi realizada de 0 a 109h. Os resultados mostraram que a redução da carga bacteriana ocorreu após algumas horas de exposição dos materiais. Além disso, uma atividade antibiofilme foi observada por microscopias de epifluorescência e eletrônica de varredura. Ressaltou-se que o revestimento mostrou atividade antibacteriana e inibição na formação de biofilme em baixas exposições de radiação UV (2,5 W/m²). Assim, os materiais demonstraram atividades antibacteriana e antibiofilme em exposições baixas de radiação UV, que devem ser investigados contra bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*. Ademais, mais pesquisas são necessárias para produzir uma formulação ideal de partículas de TiO₂, que possa ser aplicada em superfícies de revestimentos da construção.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Determinar os avanços e desafios da atividade antimicrobiana do material cimentício fotocatalítico constituído de dióxido de titânio (TiO_2), no que concerne a possível aplicabilidade no ambiente da área da saúde.

2.3 Objetivos específicos

2.3.1 Revisão integrativa da literatura

- ✓ Realizar uma revisão integrativa acerca da possível aplicabilidade do material cimentício fotocatalítico constituído de TiO_2 no ambiente da área da saúde.

2.3.2 Experimental / Laboratorial

- ✓ Investigar a atividade antibacteriana de soluções aquosas com TiO_2 em diferentes concentrações e exposições a radiações luminosas, por meio da técnica de difusão em camada dupla de ágar.
- ✓ Avaliar a atividade antibacteriana de material cimentício fotocatalítico constituído de TiO_2 em diferentes concentrações e exposições a radiações luminosas, por meio da técnica de difusão em camada dupla de ágar.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia foi exibida em duas etapas, em concordância com os objetivos propostos:

- ✓ Etapa 1 – Revisão integrativa da literatura;
- ✓ Etapa 2 – Experimental / laboratorial.

3.1 Etapa 1 – Revisão integrativa da literatura

Trata-se de uma revisão integrativa da literatura, uma prática baseada em evidência que resume a literatura científica e fornece ampla compreensão de fenômenos particulares. Seu desenvolvimento incluiu as seguintes etapas: estabelecimento da pergunta norteadora; do objetivo; dos descritores para as buscas nas bases de dados; definição dos critérios de inclusão e exclusão para a seleção da amostra; definição das informações a serem extraídas dos artigos selecionados nas bases de dados; análise dos artigos; e discussão dos resultados. A estratégia PICO (SANTOS; PIMENTA; NOBRE, 2007), foi utilizada para estabelecer a questão que norteou esta pesquisa, como segue: *(P)roblem*: contaminação microbiana em superfícies; *(I)ntervention*: material cimentício fotocatalítico; *(C)omparison*: não foi objeto de pesquisa; *(O)utcome*: atividade antimicrobiana.

Portanto, elaborou-se o seguinte questionamento: “Em quais ambientes o material cimentício fotocatalítico foi aplicado como revestimento de extensão superficial, almejando a promoção de atividade antimicrobiana?”

A pesquisa foi realizada em março de 2021, por dois pesquisadores simultaneamente. Em caso de discordância na seleção dos estudos, um terceiro pesquisador foi acionado para a resolução da discordância. O estudo foi conduzido em seis etapas:

- 1) Busca dos estudos no portal e bases de dados, adotando as palavras-chave pré-estabelecidas;
- 2) Importação dos estudos no *software EndNote Online (Clarivate Analytics)* e *Rayyan QCRI*;

- 3) Exclusão dos estudos duplicados em ao menos duas das bases ou portal e base;
- 4) Avaliação por pares dos títulos e resumos dos estudos identificados e seleção;
- 5) Análise por pares dos textos na íntegra dos estudos selecionados na etapa 4;
- 6) Extração dos dados (objetivo, método e principais resultados) dos estudos incluídos na revisão de acordo com o instrumento proposto por URSI 2005. Ressalta-se que havendo incongruência nas etapas 4 e 5 entre os pares independentes, um terceiro pesquisador, com domínio do assunto definiria se haveria ou não a exclusão do texto para a revisão integrativa de literatura.

Foram utilizadas as seguintes bases de dados para o levantamento na literatura científica: *PubMed*, *Web of Science*, SCOPUS, EMBASE e *Engineering Village*. Os critérios de inclusão foram: estudos primários sobre o assunto, publicados até março de 2021, nos idiomas português e inglês. Pesquisas de revisão, opiniões de peritos, editoriais, resumos, e demais estudos que não atendiam ao escopo do presente estudo foram excluídos. Os dados coletados foram: objetivo, método e principais resultados.

A estratégia de busca foi embasada no uso de descritores controlados (cement OR mortor OR concrete OR "building material" OR architectural OR "coated surfaces") AND (photocatalyti* OR photocatalytic OR photocatalytics OR photocatalysis) AND (titanium OR "titanium dioxide" OR "TiO₂" OR "nano-TiO₂" OR "nano-anatase" OR "anatase" OR "anatase titanium dioxide") AND (antimicrobial OR antibacterial OR bactericidal OR microbicide).

3.2 Etapa 2 – Experimental / laboratorial

3.2.1 Procedimentos éticos em pesquisa

Segundo a Resolução no 466/2012, o projeto de pesquisa não necessitou de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, pois não envolveu seres humanos.

3.2.2 Local da pesquisa

O processamento e a análise microbiológica dos experimentos foram realizados no laboratório do Núcleo de Estudos de Prevenção e Controle de Infecção nos Serviços de Saúde (NEPECISS) da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (EERP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil.

3.2.3 Preparo das soluções e material cimentício fotocatalítico

Para a confecção dos diferentes materiais cimentícios foi utilizada água e cimento (controle sem TiO_2), bem como água, cimento e TiO_2 (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil) fase cristalográfica anatase a 5 e 15% em relação ao peso do cimento.

Os espécimes ou corpos de prova foram produzidos com auxílio de placas de teflon com espessuras e orifícios de 4mm, bem como conforme um processo de cura de sete dias. Na sequência, as amostras foram esterilizadas em forno de *Pasteur* a 160°C durante 2h.

Dois aparatos para irradiação luminosa foram elaborados com lâmpadas UV-A (15W e 365nm) e LED (18W) para a avaliação da atividade fotocatalítica/antibacteriana dos materiais.

3.2.4 Padronização do inóculo bacteriano

Os experimentos foram realizados na Cabine de Segurança Biológica Classe II – modelo Bio Seg 12 (Grupo VECO, Campinas, SP, Brasil).

Cultura recente da bactéria padrão, *Escherichia coli* (ATCC 25927), foi obtida a partir de sementeiras em placas de Petri (60x15mm) esterilizadas com *Muller Hinton Agar* (BD Difco, Sparks, MD, USA) e incubação em estufa microbiológica (Quimis, Diadema, SP, Brasil) a 37°C por 24h. A partir da cultura recente, com auxílio de alça de níquel-cromo esterilizada em chama de bico de Bunsen, o inóculo bacteriano foi transferido para tubo de ensaio (150x25mm) com 10mL de solução salina a 0,85% e pérolas de vidro.

Em seguida, a homogeneização do inóculo bacteriano foi realizada em agitador de tubos AP-56 (Phoenix, Araraquara, SP, Brasil) por 1min.

A padronização do inóculo bacteriano ($\sim 10^8$ UFC/mL) foi efetuada em espectrofotômetro - modelo 22PC (Spectrumlab, China), com a leitura da absorbância entre 0,08 a 0,100 em comprimento de onda de 625nm. Quando a leitura da absorbância correspondia ao valor do intervalo pretendido, a suspensão bacteriana foi reservada para utilização em até 15min, após sua preparação. No entanto, se a leitura estivesse fora do intervalo estimado, a suspensão bacteriana era descartada e um novo inóculo padrão obtido a partir da cultura recente. Vale salientar, que a relação direta entre absorbância e carga microbiana (construção de uma curva padrão) foi determinada em experimentos prévios (triplicata) para a bactéria padrão.

3.2.4 Atividade antibacteriana das soluções aquosas com dióxido de titânio

Duas soluções aquosas com TiO_2 a 5 e 15% foram formuladas, transferidas para tubos de ensaio e esterilizadas em autoclave vertical – linha AV (Phoenix, Araraquara, SP, Brasil) a 120°C por 20min.

Após o processo de esterilização, as soluções foram distribuídas em placas de poliestireno de 24 poços. Essas soluções foram expostas à radiação luminosa conferida por aparatos com lâmpadas UV-A (15W e 365nm) e LED (18W) durante 8h e 8h + 2h (10h).

Cabe mencionar que houve a inclusão de um grupo controle sem o contato com qualquer exposição à radiação luminosa (escuro).

Este experimento foi realizado em triplicata, sendo que um total de 12 placas de Petri com camada base de *Muller Hinton Agar*, camada semeada (*Muller Hinton Agar* + inóculo bacteriano de 10^6 UFC/mL). Metade das placas foram avaliadas com amostras controle, com atividade antibacteriana (clorexidina a 0,12%), três poços com 20µL de solução com TiO_2 a 5% e a outra metade com amostras de controle com atividade antibacteriana (clorexidina a 0,12%) e 3 poços de 20 µL de solução com TiO_2 a 15%, conforme representados na Figura 1.

Decorrido o período de incubação a 37°C por 24h, a análise da atividade antibacteriana foi feita por meio da mensuração, em milímetros, dos diâmetros dos halos de inibição das amostras, com auxílio de régua milimétrica.

Figura 1 – Vista panorâmica da distribuição das amostras (clorexidina e soluções de dióxido de titânio – TiO_2 a 5 e 15%) nas placas de Petri com e sem exposição à radiação luminosa (UV-A e LED). Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2021.

Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.5 Atividade antibacteriana do material cimentício fotocatalítico com dióxido de titânio

Realizou-se este experimento em triplicata com um total de 9 placas de Petri com camada base de *Muller Hinton Agar*, camada semeada (*Muller Hinton Agar* + inóculo bacteriano de 10^6UFC/mL) e as amostras de controle com atividade antibacteriana (clorexidina a 0,12%), material cimentício controle (sem TiO_2), e material cimentício com TiO_2 a 5% e 15%, conforme expostos na Figura 2.

Realizou-se uma exposição das placas de Petri às diferentes exposições às radiações luminosas por um período de 5h. Salienta-se que houve a inclusão de um grupo controle, ficando este sem o contato com qualquer exposição à radiação luminosa (escuro).

Depois da incubação das placas a 37°C por 24h, a determinação da atividade antibacteriana foi efetuada por meio da mensuração, em milímetros, dos diâmetros dos halos de inibição das amostras, com auxílio de régua milimétrica.

Figura 2 – Vista panorâmica da distribuição das amostras (clorexidina e materiais cimentícios) na placa de Petri com e sem irradiação luminosa. Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2021.

Fonte: elaborada pelo autor.

3.2.6 Análise dos dados

Os dados coletados foram submetidos à codificação apropriada e validados por dupla digitação no *Microsoft Excel*[®]. Os resultados foram expressos em valores absolutos.

4 RESULTADOS

4.1 Etapa 1 – Revisão integrativa da literatura

A busca inicial recuperou 205 publicações e foram excluídas, primeiramente, 75 publicações que estavam duplicadas. Em seguida, iniciou-se a avaliação por pares do título e resumo das 130 publicações restantes. Após essa avaliação, excluiu-se as teses, dissertações, resumos, capítulos de livro, livros, revisões, resenhas, editoriais, opiniões de peritos e as publicações que não responderam à pergunta norteadora, totalizando 108 publicações.

Assim, apenas 22 artigos foram avaliados na íntegra e com a exclusão das revisões e publicações que não responderam à pergunta norteadora, somente 7 artigos científicos, sendo estes publicados entre os anos 2012 e 2019 foram incluídos para confecção desta revisão integrativa da literatura.

O fluxograma apresentado na Figura 3 detalha o processo de análise dos estudos encontrados e avaliados.

Figura 3 – Processo de seleção dos estudos sobre o uso de material cimentício fotocatalítico com possível atividade antimicrobiana. Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2021.

Fonte: elaborada pelo autor.

4.2 Etapa 2 – Experimental / laboratorial

4.2.1 Atividade antibacteriana de soluções aquosas com dióxido de titânio

Não houve atividade antibacteriana contra *E. coli* das soluções sem ou com TiO₂ a 5 e 15% expostas à radiação luminosa (UV-A e LED) ou não (escuro) durante 8 e 10h. No entanto, é importante mencionar que a solução de clorexidina a 0,12% (controle) demonstrou halo de inibição bacteriana de 18 a 20mm (Apêndice A).

4.2.2 Atividade antibacteriana do material cimentício fotocatalítico com dióxido de titânio

Não houve atividade antibacteriana conclusiva contra *E. coli* dos materiais cimentícios sem ou com TiO₂ a 5 e 15% expostos à radiação luminosa (UV-A e LED) ou não (escuro) durante 5h, apesar de alguns resultados terem demonstrado halos de inibição tênues ao redor das amostras. Entretanto, vale salientar que a solução de clorexidina a 0,12% (controle) demonstrou halo de inibição bacteriana de 20 a 21mm (Figura 4 e Apêndice B).

Figura 4. Vista panorâmica das amostras (clorexidina e materiais cimentícios) nas placas de Petri com *E. coli* submetidas às seguintes exposições: **A)** escuro; **B)** UV-A e **C)** LED. Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2021.

Fonte: elaborada pelo autor.

5 DISCUSSÃO

5.1 Etapa 1 – Revisão integrativa da literatura

Esta revisão integrativa da literatura teve como objetivo analisar quais ambientes o material cimentício fotocatalítico foram empregados como revestimento de extensão superficial, almejando a promoção de atividade antimicrobiana.

Os sete estudos que contemplaram o resultado desta revisão integrativa foram realizados *in vitro*, não sendo encontradas pesquisas com delineamento de intervenção que abordassem locais físicos (ambiente da área da saúde) com a aplicação do material cimentício fotocatalítico ou utilizassem superfícies providas desta substância, como estratégia de promover atividade antimicrobiana.

Os resultados desta revisão indicam que a atividade antimicrobiana do material cimentício fotocatalítico ocorre de forma distinta entre micro-organismos diferentes, sujeitos ao mesmo tipo de exposição, de modo que a redução ou eliminação microbiana pode ocorrer em tempos de exposição diversos, dentro de um mesmo cenário (BONETTA *et al.*, 2013). Por tratar-se de um material com propriedades fotocatalíticas, pouca ou nenhuma inativação bacteriana foi detectada quando as amostras com TiO₂ em sua composição foram mantidas em ambiente escuro (GANJI *et al.*, 2016; GUO, LING, POON, 2013; GUO, MAURY-RAMIREZ, POON, 2015). Além disso, no trabalho desenvolvido por Ganji *et al.* (2016), observou-se que somente o uso da radiação UV (320 a 420nm) demonstrou uma redução limitada da carga bacteriana.

Parâmetros relacionados ao fluxo de irradiação (W/m²) e comprimento de onda (nm) das lâmpadas UV são extremamente importantes para que o material fotocatalítico sofra a devida ativação e cause a inibição microbiana, seja pela redução ou pela eliminação do micro-organismo. A temperatura durante os experimentos foi estabilizada com um sistema de ventilação, para que não houvesse influência no crescimento bacteriano (BONETTA *et al.*, 2013). Outro aspecto relevante para um maior nível de atividade fotocatalítica está no tocante da área superficial das partículas deste material, a qual pode ser mensurada através do Método de BET. O ideal é que as partículas do material fotocatalítico apresentem maior área de superfície e porosidade. Sendo assim, indica-se o uso da anatase, pois por natureza, ela confere uma formação facilitada de radicais livres, além de outros fatores, que a tornam mais

recomendada do que as outras duas fases de cristalização do TiO_2 (GANJI *et al.*, 2016).

No estudo de Ganji *et al.* (2016), o aumento nas concentrações de TiO_2NPs nas amostras de cimento causaram crescente atividade antibacteriana após exposição à radiação UV. Em termos de composição, os estudos com TiO_2 impregnado na superfície dos materiais obtiveram maior atividade antimicrobiana, quando comparados com aqueles que utilizaram o TiO_2 na massa, ou seja, misturado ou incorporado aos demais componentes do material (GANJI *et al.*, 2016; GUO, LING, POON, 2013). Esses resultados podem ser explicados devido a quantidade de TiO_2 disponibilizada na superfície do material, a qual foi superior para aqueles caracterizados como camada superficial do que para os caracterizados como massa, visto que quando o TiO_2 é inserido na massa, junto aos demais componentes, somente a parcela que se estabelece na superfície, permitindo contato com a exposição à radiação UV poderá ser ativada e promover atividade antimicrobiana.

No que tange ao contexto de evitar possíveis vieses, principalmente, de inativação bacteriana, Verdier *et al.* (2018) reduziram o pH das amostras cimentícias (pH=13 em amostras inalteradas), utilizando um reator de borossilicato por operação de lixiviação, tendo em vista que um alto nível de alcalinidade é incompatível com o crescimento microbiano. A operação foi realizada durante 15 dias, obtendo-se um pH=7.

Outra técnica para redução do pH observada foi por meio da exposição de corpos de prova em fluxo de água contínuo, de modo que o pH foi mensurado periodicamente até atingir o valor 7 (GANJI *et al.*, 2016).

Conforme o estudo de Guo, Ling e Poon (2012), a remoção de óxido de nitrogênio e a atividade antimicrobiana são duas ações bastante diferentes, sendo o último um processo mais complexo. A remoção de óxido de nitrogênio nem sempre pode ser extrapolada para atividade antimicrobiana.

Nota-se, em relação a área superficial do fotocatalisador, de acordo com o mostrado por Loh, Gaylarde e Shirakawa (2018), que as micropartículas de TiO_2 (150nm de diâmetro) ofereceram uma área de superfície maior para adsorção e reação com moléculas grandes, como rodamina B, enquanto as nanopartículas (17nm de diâmetro) foram capazes de reagir mais prontamente com pequenas moléculas de óxidos nitrosos, sendo preferível para despoluição. Para a inativação de células

microbianas, a dispersão e porosidade dos agregados, provavelmente, não são cruciais, sendo que as micropartículas podem ser preferíveis em tal situação.

As limitações metodológicas do presente estudo estão relacionadas ao viés na seleção das bases de dados, visto que apesar da busca das evidências científicas se dar em 5 bases distintas, ainda há possibilidade de que outros estudos elegíveis não tenham sido acessados ou incluídos nesta revisão e/ou estejam indexados em outras bases de dados. Outra limitação a ser considerada refere-se ao viés de extração/descrição dos resultados de cada um dos estudos selecionados, pois mesmo que todo o processo de seleção e análise dos artigos tenha ocorrido por dois pesquisadores, simultaneamente, e de forma independente, apenas um único pesquisador realizou a extração e descrição dos resultados apresentados.

Entretanto, em decorrência da enorme quantidade e complexidade de informações produzidas e veiculadas constantemente, torna-se necessário reunir as evidências científicas disponíveis na literatura que respondam aos questionamentos ainda sem respostas claras e definitivas, considerando a validade e relevância dos estudos desenvolvidos. Neste sentido, os resultados desta revisão integrativa da literatura contribuem como subsídio para pesquisadores e profissionais das áreas da engenharia e saúde, que buscam compreender o uso do material cimentício fotocatalítico com aplicabilidade antimicrobiana, e o seu potencial para implementação nas estruturas físicas e superfícies nos serviços de assistência à saúde, contribuindo, possivelmente, na redução da contaminação microbiana e promovendo, assim, a prevenção e controle de IRAS.

Ressalta-se ainda que, apesar de não recuperarmos estudos a respeito da utilização de material cimentício fotocatalítico para além de experimentos *in vitro*, os resultados positivos observados, em termos de aplicabilidade antimicrobiana, nos permitem deixar direcionamentos promissores para essa área de investigação, principalmente, no que tange ao desafio da transdisciplinaridade da pesquisa científica.

5.2 Etapa 2 – Experimental / laboratorial

Os experimentos realizados *in vitro* tiveram como objetivo principal a avaliação da atividade antibacteriana contra *E. coli*, simulando ambientes da área da saúde, diante do uso de um semicondutor fotocatalítico (TiO₂). Ambos foram realizados na

transição dos anos 2019 e 2020, em um momento em que ainda não se dispunha de muitas informações oriundas da revisão de literatura e de um possível aprimoramento da técnica experimental, devido a questão de que estes foram experimentos piloto ou “de entrada”. Devido a pandemia de COVID-19, que enfrentamos desde meados do mês de março de 2020, os demais experimentos que seriam executados ao longo da jornada de mestrado não puderam ser finalizados, gerando ao presente trabalho uma limitação em relação ao que será apresentado na parte experimental.

Os experimentos realizados, conforme mostrado anteriormente, serão em primeiro lugar discutidos de forma individual, sendo que na sequência, mostraremos a necessidade pela qual o experimento “3.2.5 *Atividade antibacteriana do material cimentício fotocatalítico com TiO₂*” foi realizado anteriormente ao “3.2.4 *Atividade antibacteriana de soluções aquosas com TiO₂*”, que por motivos didáticos foram apresentados em ordem inversa.

Para o experimento 3.2.5 foram confeccionados corpos de prova de materiais cimentícios fotocatalíticos, utilizando água, cimento e TiO₂ a 5 e 15% em relação ao peso do cimento. Os corpos de prova foram produzidos com auxílio de placas de teflon com espessuras e orifícios de 4mm, ficando estes em processo de cura por 7 dias para que na sequência fosse realizada a exposição das placas de Petri às diferentes radiações luminosas lâmpadas [UV-A (15W e 365nm) e LED (18W)] e escuro. Passados os demais procedimentos, conforme já demonstrados anteriormente, realizou-se a análise da atividade antibacteriana por meio da técnica de corpo de prova difusão em camada dupla de ágar e a leitura dos resultados dos diâmetros dos halos de inibição das demais amostras, expressos em milímetros. Apesar de se notar visualmente uma pequena manifestação da atividade antibacteriana ocasionada por algumas amostras confeccionadas com material cimentício fotocatalítico, o crescimento bacteriano tênue ao redor das amostras foi evidenciado, sendo a atividade antibacteriana considerada negativa.

Diante de tal situação e do conhecimento presente até o momento, decidiu-se pela realização o experimento 3.2.4 para a investigação independente das possíveis atividades fotocatalíticas do TiO₂. Dando então sequência ao experimento, foram confeccionadas soluções de TiO₂ e água, sem a presença de cimento, utilizando TiO₂ a 5 e 15% em relação ao peso da água. Tais soluções foram formuladas e distribuídas em placas de poliestireno de 24 poços, para que na sequência fosse realizado a exposição das placas às diferentes exposições às radiações luminosas [lâmpadas UV-

A (15W e 365nm) e LED (18W)] e escuro. Decorrido os demais procedimentos, conforme já demonstrados anteriormente, realizou-se a análise da atividade antibacteriana por meio da técnica de corpo de prova difusão em ágar e a leitura dos resultados dos diâmetros dos halos de inibição das demais amostras, expressos em milímetros. Após a avaliação, as amostras das soluções aquosas sem e com TiO₂ não demonstraram qualquer atividade antibacteriana contra *E. coli*.

Nota-se que os resultados da nossa pesquisa, mesmo com as limitações inerentes, contribuíram para os avanços e desafios do entendimento acerca do material cimentício fotocatalítico com TiO₂ e sua possível aplicabilidade no ambiente da área da saúde, mesmo porque os resultados da literatura científica mostraram diferentes metodologias microbiológicas *in vitro*, concentrações e exposições a radiações luminosas de soluções e materiais cimentícios fotocatalíticos, ainda, sem uma concordância definida.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, não há consenso na literatura científica acerca da atividade antimicrobiana de material cimentício fotocatalítico com TiO_2 . Ainda, conforme a metodologia empregada neste estudo, a atividade contra *E. coli* das soluções aquosas e do material cimentício fotocatalítico com TiO_2 não foi evidenciada, sendo que avanços e desafios no controle de contaminação e risco de infecção microbiana no ambiente da área da saúde continuam.

REFERÊNCIAS¹

BARANWAL, A. et al. Prospects of Nanostructure Materials and Their Composites as Antimicrobial Agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 422, 2018.

BARCHITTA, M. et al. Antibiotic Consumption and Resistance during a 3-Year Period in Sicily, Southern Italy. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 13, p. 2253, 2019.

BONETTA, S. et al. Photocatalytic bacterial inactivation by TiO₂-coated surfaces. **AMB Express**, v. 3, n. 1, p. 59, 2013.

CASSAR, L. Photocatalysis of Cementitious Materials: Clean Buildings and Clean Air. **MRS Bulletin**, Cambridge, v. 29, n. 5, p. 328–331, 2004.

CIŽMAN, M.; SROVIN, T. P. Antibiotic consumption and resistance of gram-negative pathogens (collateral damage). **GMS Infectious Diseases**, v. 6, p. Doc05, 2018.

GANJI, N. et al. Photocatalytic effect of nano-TiO₂ loaded cement on dye decolorization and *Escherichia coli* inactivation under UV irradiation. **Research on Chemical Intermediates**, v. 42, p. 5395–5412, 2016.

GUO, M. Z.; LING, T. C.; POON, C. S. Nano-TiO₂-based architectural mortar for NO removal and bacteria inactivation: Influence of coating and weathering conditions. **Cement and Concrete Composites**, v. 36, p. 101–108, 2013.

GUO, M. Z.; LING, T. C.; POON, C. S. TiO₂-based self-compacting glass mortar: Comparison of photocatalytic nitrogen oxide removal and bacteria inactivation. **Building and Environment**, v. 53, p. 1–6, 2012.

GUO, M. Z.; MAURY-RAMIREZ, A.; POON, C. S. Versatile photocatalytic functions of self-compacting architectural glass mortars and their inter-relationship. **Materials & Design**, v. 88, p. 1260–1268, 2015.

JAIN, A.; VAYA, D. Photocatalytic activity of TiO₂ nanomaterial. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 62, n. 4, p. 3683–3690, 2017.

LACEY, M. E. Q.; SCHIRMER, W. N. O uso da fotocatalise para a desinfecção e desodorização do ar interno. **Ambiência: Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 4, n. 2, p. 309–325, 2008.

LEONCIO, J. M. et al. Impact of healthcare-associated infections on the hospitalization costs of children. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 53, p. e03486, 2019.

LIU, B. et al. High sub-band gap response of TiO₂ nanorod arrays for visible photoelectrochemical water oxidation. **Applied Surface Science**, v. 465, p. 192–200, 2019.

LIU, R. et al. Solvothermal synthesized Ag-decorated TiO₂/sepiolite composite with enhanced UV–vis and visible light photocatalytic activity. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 266, p. 268–275, 2018.

LOH, K.; GAYLARDE, C. C.; SHIRAKAWA, M.A. Photocatalytic activity of ZnO and TiO₂ ‘nanoparticles’ for use in cement mixes. **Construction and Building Materials**, v. 167, p. 853–859, 2018.

PAPOULIS, D. et al. Halloysite and sepiolite – TiO₂ nanocomposites: synthesis characterization and photocatalytic activity in three aquatic wastes. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 85, p. 1–8, 2018.

REID, M. et al. How Does a Photocatalytic Antimicrobial Coating Affect Environmental Bioburden in Hospitals? **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 39, n. 4, p. 398–404, 2018.

SANTOS, C. M. C.; PIMENTA, C. A. M.; NOBRE, M. R. C. The PICO strategy for the research question construction and evidence search. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 508–511, 2007

VERDIER, T. et al. Bacterial Biofilm Characterization and Microscopic Evaluation of the Antibacterial Properties of a Photocatalytic Coating Protecting Building Material. **Coatings**, v. 8, n. 3, p. 93, 2018.

APÊNDICE A – Avaliação da atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*: halos de inibição em milímetros. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Tipo de placa	Exposição	Clorexidina	Amostras		
			1	2	3
5% TiO ₂	Escuro 8h	19	0	0	0
15% TiO ₂	Escuro 8h	18	0	0	0
5% TiO ₂	Escuro 8h + 2h	18	0	0	0
15% TiO ₂	Escuro 8h + 2h	18	0	0	0
5% TiO ₂	LED 8h	20	0	0	0
15% TiO ₂	LED 8h	18	0	0	0
5% TiO ₂	LED 8h + 2h	18	0	0	0
15% TiO ₂	LED 8h + 2h	19	0	0	0
5% TiO ₂	UV-A 8h	18	0	0	0
15% TiO ₂	UV-A 8h	18	0	0	0
5% TiO ₂	UV-A 8h + 2h	19	0	0	0
15% TiO ₂	UV-A 8h + 2h	19	0	0	0

Fonte: elaborado pelo autor.

APÊNDICE B – Avaliação da atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*: halos de inibição em milímetros. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2019.

Amostra	Escuro			Exposição à radiação					
				UV-A			LED		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
CHX a 0,12%	20	20	20	20	20	20	21	20	20
TiO ₂ a 0%	7*	7*	7*	7*	7*	7*	0	8*	7*
TiO ₂ a 5%	0	7*	7*	8*	8*	6*	8*	7*	7*
TiO ₂ a 15%	0	8*	8*	9*	9*	9*	9*	7*	8*

Legenda: * - crescimento bacteriano tênue sobre o halo de inibição.

Fonte: elaborada pelo autor.