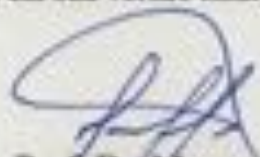


Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa do Instituto Tecnológico de Aeronáutica, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Física, Área de Física de Plasmas.

Elisa Mantovani Cazalini

SÍNTESE E ESTUDO *IN VITRO* DE NANOFILMES DE DLC E PRATA NO REVESTIMENTO DE TELAS POLIMÉRICAS DE USO CIRÚRGICO

Tese aprovada em sua versão final pelos abaixo assinados:



Prof. Dr. Marcos Massi
Orientador



Prof. Dr. José Elias Matieli
Coorientador

Prof. Dr. Pedro de Teixeira Lacava
Pró-Reitor de Pós-Graduação e Pesquisa

Campo Montenegro
São José dos Campos, SP – Brasil
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**Divisão de Informação e Documentação**

Cazalini, Elisa Mantovani

Síntese e estudo *in vitro* de nanofilmes de DLC e prata no revestimento de telas poliméricas de uso cirúrgico /

Elisa Mantovani Cazalini.

São José dos Campos, 2018.

141f.

Tese de doutorado – Física, Área de Física de Plasmas – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Massi, Prof. Dr. José Elias Matieli.

1. Tela de polipropileno 2. Nanofilmes 3. Superfície I. Instituto Tecnológico de Aeronáutica. II. Título

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CAZALINI, Elisa Mantovani. **Síntese e Estudo *in vitro* de nanofilmes de DLC e prata no revestimento de telas poliméricas de uso cirúrgico.** 2018. 141f. Tese de doutorado em Física, Área de Física de Plasmas – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Elisa Mantovani Cazalini

TÍTULO DO TRABALHO: Síntese e estudo *in vitro* de nanofilmes de DLC e prata no revestimento de telas poliméricas de uso cirúrgico.

TIPO DO TRABALHO/ANO: Tese / 2018

É concedida ao Instituto Tecnológico de Aeronáutica permissão para reproduzir cópias desta tese e para emprestar ou vender cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação ou tese pode ser reproduzida sem a sua autorização (do autor).

Elisa Mantovani Cazalini

Rua Dr. José Leite Cotrim, 132 - Jd Adélia

CEP: 13904-231, Amparo - SP

**SÍNTESE E ESTUDO *IN VITRO* DE NANOFILMES DE DLC E
PRATA NO REVESTIMENTO DE TELAS POLIMÉRICAS DE
USO CIRÚRGICO**

Elisa Mantovani Cazalini

Composição da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Gilberto Petraconi	Presidente	- ITA
Prof. Dr. Marcos Massi	Orientador	- ITA
Prof. Dr. José Elias Matieli	Coorientador	- ITA
Prof. Dr. Mirabel Cerqueira Rezende	Membro Interno	- ITA
Prof. Dr. Ana Maria Alvim Liberatore	Membro Externo	- UNIFESP
Prof. Dr. Mauro Cesar Terence	Membro Externo	- Mackenzie

Dedico este trabalho a todas as mulheres, cuja trajetória de lutas possibilitaram que eu chegasse aqui hoje.

Agradecimentos

Aos meus pais Elisabete e José Carlos, Vinícius e Xangô pelo amor e apoio incondicional.

Ao amor da minha vida André pela parceria, amizade, compreensão e por estar ao meu lado desde o início nessa caminhada.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Marcos Massi e Prof. Dr. José Elias Matieli pela oportunidade e confiança na realização deste trabalho.

Aos demais professores, funcionários e colegas do ITA, INPE, IAE, IEAv, USP e UNIFESP.

A Michele Aparecida Rocha pela análise ICP, Milton Faria Diniz pela análise FT-IR e Filipe Vargas pelo mapeamento EDS.

Ao Centro de Tecnologia das Radiações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN pela esterilização das amostras.

Ao prof. Dr. Walter Toshi pela amizade, ensinamentos e contribuição essencial na caracterização dos resultados.

À profa. Dra. Cristiane Koga-Ito, Laura Lepesqueur e Aline Gontijo pela oportunidade de trabalho e aprendizado no Laboratório de Genoma e pela colaboração imprescindível para a realização dos ensaios biológicos.

Aos colegas, técnicos e funcionários do Instituto de Ciências e Tecnologia da UNESP pelo auxílio com as análises *in vitro* e os ensaios mecânicos.

Aos meus queridos amigos que diretamente ou indiretamente contribuíram de modo significativo para a conclusão deste trabalho, em especial, Gabi Leal, Mility Portugal, Felipe Xelonodel, Edu 28, Lila Cairo, Brun Willi, Mark Prado, Tailliny Avila, Perigosas do Vale e Unique Jiu Jitsu.

Ao Sci-Hub por remover todas as barreiras no caminho da ciência.

Ao CNPq, CAPES e FAPESP (2011/14038-4) pelo suporte financeiro.

Mais uma vez agradeço imensamente ao apoio pessoal e científico nesta árdua jornada, ninguém vence só.

*" Obviously my method of thought and reasoning is influenced by a scientific training –
if that were not so my scientific training will have been a waste and a failure".*

Rosalind Franklin

Resumo

Este trabalho contempla o desenvolvimento de modificações superficiais de telas poliméricas comerciais de uso cirúrgico com nanofilmes de DLC e prata, visando o melhoramento da resposta do implante no organismo. O aumento da biointegração e a inserção de efeito antimicrobiano acarreta na diminuição de reações adversas e conseqüentemente no sucesso do implante, possibilitando também melhores resultados em indivíduos imunocomprometidos. As telas de polipropileno são materiais de baixo custo utilizados na rede pública de saúde, e por ser um material hidrofóbico e quimicamente inerte promove interações fracas com células, sangue e tecidos, e reações adversas como inflamação, coagulação e reação de corpo estranho. O revestimento dos implantes pela técnica de *magnetron sputtering* permite alterar suas características superficiais como topografia, química, energia superficial e molhabilidade que são diretamente relacionadas aos processos de adesão, distribuição, proliferação e diferenciação celular, sem comprometer suas propriedades estruturais. A inserção de grupos funcionais e o aumento da energia superficial das telas processadas pode auxiliar na cicatrização de feridas e no crescimento tecidual, levando a uma melhoria na biointegração do implante. Das análises de AFM e MEV foi observado a dinâmica de crescimento dos nanofilmes na superfície das telas e suas respectivas diferenças topográficas. A variação na morfologia e distribuição de estruturas na superfície das telas está diretamente relacionada com a potência de descarga na deposição dos nanofilmes. As ligações químicas do material foram verificadas por FT-IR e XPS, indicando o comprometimento das cadeias poliméricas da tela e a variação na composição dos grupos funcionais superficiais dependendo do parâmetro de processo utilizado. Os parâmetros de deposição também modificam as propriedades mecânicas da tela de polipropileno, principalmente para a tela de baixa densidade. A colonização de biofilmes bacterianos e fúngico nas telas processadas não apresentou diferença estatística em relação ao polímero puro, contudo, os resultados sugerem uma menor infiltração celular e degradação do substrato polimérico podendo evitar falhas e a necessidade de remoção do implante em ambientes biológicos. Os resultados mostraram que os revestimentos de nanofilmes de DLC com alto teor de ligações sp^3 reduz a colonização por *Staphylococcus aureus*, microrganismo responsável pelo maior número de infecções protéticas (até 75%). Estudos de citotoxicidade mostraram elevada viabilidade celular tanto para a tela de polipropileno sem processamento quanto para as amostras recobertas com nanofilmes biocompatíveis de DLC e prata.

Abstract

This work contemplates the development of superficial modifications of commercial polymeric meshes with DLC and silver nanofilms, aiming at improving the implant response in the body. The increase of biointegration and insertion of antimicrobial effect lead to the decrease in adverse reactions and consequently, to the implant success, also allowing better results in immunocompromised individuals. Polypropylene meshes are low-cost materials used in the public health network and for being a hydrophobic and chemically inert material promote weak interactions with cells, blood and tissues, and adverse reactions like inflammation, coagulation and foreign body reaction. The coating of implants by magnetron sputtering technique allows a change in its surface characteristics, such as topography, chemistry, surface energy and wettability that are directly related to the processes of adhesion, distribution, proliferation and cellular differentiation, without compromising its structural properties. An insertion of functional groups and the increase of the surface energy of the processed meshes can aid in wound healing and tissue growth, leading to an improvement in implant biointegration. From the analysis of AFM and MEV, the dynamics of nanofilm growth on the mesh surface and their topographic differences were observed. The variation in the morphology and distribution of the structures on the mesh surface is directly related to the discharge power in the deposition of nanofilms. The chemical bonds of the material were obtained by FT-IR and XPS, indicating the compromise of the mesh polymeric chains and the variation in the composition of surface functional groups depending on the process parameter used. The deposition parameters also modify the mechanical properties of the polypropylene mesh, especially for the low density meshes. The colonization of bacterial and fungal biofilms on the processed meshes did not present statistical difference in relation to the pure polymer; however, the results suggest a lower cell infiltration and degradation of the polymer substrate, avoiding failures and the need for the removal of the implant in the biological environments. The results showed that DLC nanofilm coatings with high sp^3 binding content reduces colonization by *Staphylococcus aureus*, a microorganism responsible for the highest number of prosthetic infections (up to 75%). Cytotoxicity studies showed high cell viability both for the unprocessed polypropylene mesh and for the samples coated with DLC and silver biocompatible nanofilms.

Lista de Figuras

Figura 1	- Prótese de madeira e escultura de operação cirúrgica encontradas em tumbas egípcias [1,2]	15
Figura 2	- Estimativa para o Mercado Global de Dispositivos para Reparo de Hérnia até 2020.....	17
Figura 3	- Dados de internações por hérnias no Sistema Único de Saúde - SUS.....	18
Figura 4	- Tela protésica Intracorp® para reparo cirúrgico de hérnias.....	18
Figura 5	- Citações de infecções de telas para reparo de hérnias por ano [13].....	19
Figura 6	- Representação detalhada da parede abdominal humana e seus componentes. Adaptado de [20].....	22
Figura 7	- Propriedades ligadas ao desempenho das telas cirúrgicas. Adaptado de [4].....	23
Figura 8	- Design das telas comerciais Gore DualMesh Plus e TiMesh [25].....	25
Figura 9	- Comparação da resistência à tração de diferentes telas comerciais. A linha vermelha indica a força de tração mínima exigida pela tela para sustentar o reparo da hérnia (32 N/cm). Adaptado de [38].....	26
Figura 10	- Ciclo de vida de biofilmes inclui três fases principais: aderência, acumulação e dispersão. A aderência pode ser definida em três subfases: (1) translocação para o substrato superficial, (2) adesão reversível inicial e (3) adesão irreversível envolvendo adesinas específicas do local. O estágio final consiste na dispersão de células para a colonização de novas superfícies. Adaptado de [64].....	30
Figura 11	- Classificação dos materiais mais relevantes utilizados no reparo de defeitos da parede abdominal e sua suscetibilidade à contaminação bacteriana [8].....	32
Figura 12	- Desenho esquemático do processo de deposição por <i>magnetron sputtering</i>	36
Figura 13	- Rendimento de <i>sputtering</i> do carbono em relação a diferentes metais [144].....	37
Figura 14	- Mecanismos de interação da prata nanométrica em células procarióticas [156].....	43
Figura 15	- Ligações químicas dos materiais carbonosos e suas respectivas estruturas [227].....	45

Figura 16	- Sistema de deposição de filmes finos do PlasMat-ITA.....	46
Figura 17	- Câmara de deposição de filmes finos.....	47
Figura 18	- Desenho esquemático do processo de deposição para a) nanofilmes de prata e b) nanofilmes de DLC.....	48
Figura 19	- Definição do ângulo de contato entre uma gota e uma superfície plana e horizontal.....	51
Figura 20	- Resultados típicos de testes de riscamento. Adaptado de [238].....	54
Figura 21	- Variação da espessura dos filmes finos de DLC em função do tempo de deposição.....	60
Figura 22	- Variação da espessura dos filmes finos de prata em função do tempo de deposição.....	61
Figura 23	- Teste de riscamento com ponta de 1 μm e carga progressiva de 0,1 mN a 5 mN.....	62
Figura 24	- Panorama do teste de riscamento com ponta de 1 μm	62
Figura 25	- Teste de riscamento com ponta de 5 μm e carga progressiva de 0,3 mN a 10 mN.....	63
Figura 26	- Panorama do teste de riscamento com ponta de 5 μm	63
Figura 27	- Variação no ângulo de contato das amostras para água DI (em preto) e diiodometano (em azul).....	64
Figura 28	- Ângulo de contato dos líquidos polar e apolar para as amostras poliméricas com e sem nanofilmes de DLC e prata.....	64
Figura 29	- Energia de superfície para o polipropileno e os nanofilmes de prata e DLC.....	65
Figura 30	- FEG 10.000x da tela de polipropileno sem revestimento.....	66
Figura 31	- FEG 10.000x dos nanofilmes de DLC a) C100 b) C200 e c) C300.....	67
Figura 32	- FEG 10.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.....	68
Figura 33	- FEG 100.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.....	69
Figura 34	- FEG 250.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.....	70
Figura 35	- Mapeamento EDS das fibras recobertas com nanofilmes de Ag a) A3 b) A5 c) A7.....	71
Figura 36	- Perfil 3D em área de (15x15) μm do substrato de polipropileno sem revestimento.....	71

Figura 37	- Perfil 3D em área de (15x15) μm das amostras revestidas com filmes finos de DLC a) C100 b) C200 e c) C300.....	72
Figura 38	- Imagens 2D do substrato a) PP (4x4) μm b) PP (2x2) μm e dos nanofilmes de DLC c) C100 (4x4) μm d) C100 (2x2) μm e) C200 (4x4) μm f) C200 (2x2) μm g) C300 (4x4) μm e h) C300 (2x2) μm ...	72
Figura 39	- Perfil 3D em área de (15x15) μm das amostras revestidas com filmes finos de prata a) A3 b) A5 e c) A7.....	73
Figura 40	- Imagens 2D do substrato a) PP (4x4) μm b) PP (2x2) μm e dos nanofilmes de prata c) A3 (4x4) μm d) A3 (2x2) μm e) A5 (4x4) μm f) A5 (2x2) μm g) A7 (4x4) μm e h) A7 (2x2) μm	74
Figura 41	- Parâmetros de rugosidade Rz e Rms.....	75
Figura 42	- Linha de emissão do equipamento e das amostras de prata.....	76
Figura 43	- Espectro FT-IR da tela sem tratamento em preto; com nanofilme C100 em azul; com nanofilme C200 em vermelho e com nanofilme C300 em roxo.....	77
Figura 44	- Espectro FT-IR da tela sem tratamento em preto; com nanofilme A3 em azul; com nanofilme A5 em vermelho e com nanofilme A7 em roxo.....	78
Figura 45	- Curva de alta resolução do pico C 1s para a tela de polipropileno.....	80
Figura 46	- Curva de alta resolução do pico C 1s para a tela recoberta com os nanofilmes de DLC a) C100, b) C200 e c) C300.....	80
Figura 47	- Curva de alta resolução do pico C 1s para a tela recoberta com os nanofilmes de prata a) A3, b) A5 e c) A7.....	81
Figura 48	- Percentual dos grupos funcionais presentes na superfície das telas recobertas com nanofilmes de DLC e prata.....	82
Figura 49	- Curva de alta resolução dos picos Ag 3d para a tela recoberta com os nanofilmes de prata a) A3, b) A5 e c) A7.....	83
Figura 50	- Curva de alta resolução do pico O 1s para a) tela pura e com nanofilmes de prata b) A3, c) A5 e d) A7.....	84
Figura 51	- Curvas de carga vs deslocamento para as telas de polipropileno de alta e baixa densidade.....	85
Figura 52	- Curvas de tensão versus deformação para as telas de alta densidade...	87
Figura 53	- Módulo de elasticidade (E) para as telas de alta densidade. * p valor < 0,05.....	88

Figura 54	-	Curvas de tensão versus deformação para as telas de baixa densidade.....	88
Figura 55	-	Ductilidade (% El) para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.....	89
Figura 56	-	Módulo de tenacidade para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.....	90
Figura 57	-	Limite de resistência à tração para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.....	91
Figura 58	-	Módulo de resiliência para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.....	92
Figura 59	-	Tela de alta densidade antes e depois do ensaio de tração.....	92
Figura 60	-	Tela de baixa densidade antes e depois do ensaio de tração.....	93
Figura 61	-	Foto do ensaio MTT de citotoxicidade evidenciando a mudança de coloração.....	94
Figura 62	-	Comparação da viabilidade celular (%) por MTT.....	95
Figura 63	-	Log UFC/amostra para <i>Candida albicans</i> . * p valor < 0,0005.....	96
Figura 64	-	MEV da formação do biofilme de <i>Candida albicans</i> nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.....	97
Figura 65	-	Log UFC/amostra para <i>Staphylococcus aureus</i> . * p valor < 0,05.....	99
Figura 66	-	MEV da formação do biofilme de <i>Staphylococcus aureus</i> nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.....	100
Figura 67	-	MEV 500x da formação do biofilme de <i>Staphylococcus aureus</i> nas telas revestidas com nanofilmes de prata.....	101
Figura 68	-	Log UFC/amostra para <i>Escherichia coli</i> . * p valor < 0,01.....	102
Figura 69	-	MEV da formação do biofilme de <i>Escherichia coli</i> nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.....	103
Figura 70	-	MEV 500x da formação do biofilme de <i>Escherichia coli</i> nas telas revestidas com nanofilmes de prata.....	104

Lista de Tabelas

Tabela 1	-	Telas cirúrgicas antimicrobianas comercializadas [57].....	33
Tabela 2	-	Efeito dos grupos funcionais superficiais na resposta biológica [146]...	38
Tabela 3	-	Detalhamento dos substratos utilizados na deposição dos filmes finos.....	48
Tabela 4	-	Detalhamento das técnicas de caracterização realizadas.....	50
Tabela 5	-	Concentração atômica dos elementos químicos na superfície das telas cirúrgicas.....	79

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Motivações e Justificativas.....	17
1.2	Objetivos.....	19
1.3	Organização do trabalho.....	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1	Tela sintética para reparo de hérnias.....	21
2.2	Resposta imunológica associada ao uso de biomateriais.....	27
2.3	Infecções associadas ao uso de biomateriais.....	29
2.4	Revestimento de biomateriais.....	33
2.5	Prata na medicina.....	38
2.6	Carbono tipo diamante (DLC).....	44
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1	Sistema de deposição.....	46
3.2	Substratos.....	48
3.3	Parâmetros de deposição.....	48
3.4	Técnicas de Caracterização.....	50
3.5	Ensaio biológicos.....	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	59
4.1	Caracterização físico-química.....	59
4.1.1	Perfilometria.....	59
4.1.2	Teste de riscamento.....	61
4.1.3	Goniometria.....	63
4.1.4	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	66
4.1.5	Microscopia de Força Atômica.....	71
4.1.6	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma.....	76
4.1.7	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	76
4.1.8	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X.....	79
4.1.9	Ensaio Mecânico.....	85

4.2	Caracterização biológica.....	94
4.2.1	Avaliação da Citotoxicidade.....	94
4.2.2	Aderência Microbiana.....	96
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
6	CONCLUSÃO.....	109
7	TRABALHOS FUTUROS.....	110
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111
	APÊNDICE.....	141

1 Introdução

O uso de materiais pela humanidade para substituir ou reparar alguma função do corpo remonta à antiguidade, onde materiais naturais eram usados na tentativa de substituir estruturalmente tecidos danificados por doenças ou traumas. Os primeiros a desenvolver conhecimento detalhado da anatomia humana e introduzir técnicas cirúrgicas avançadas foram os egípcios (1500 aC), seguidos pelos fenícios (900 aC) e os antigos gregos (Hipócrates, 400 aC) [1].

Durante esse período foram registradas várias técnicas operacionais e dispositivos, como as próteses de materiais naturais identificadas em uma escavação arqueológica nas tumbas de Tebas Ocidental, e a escultura ilustrada de um operador que aparentemente realiza uma circuncisão e uma redução de hérnia inguinal na tumba de Ankhmahor, apresentadas na Figura 1 [1,2].



Figura 1. Prótese de madeira e escultura de operação cirúrgica encontradas em tumbas egípcias [1,2].

O reparo da hérnia era precedido por medidas simples, como ligaduras ou cintas para hérnia redutível, e repouso, dieta, purgação e aplicação de água fria para a hérnia estrangulada. À medida que a civilização progrediu, surgiu a primeira prótese de hérnia composta por fios de prata tecidos em filigranas, porém, complicações graves, desconforto e reabsorção de materiais levava a necessidade da busca por novos dispositivos [3]. Atualmente, inúmeras próteses encontram-se disponíveis para cirurgia da parede abdominal,

as quais podem ser classificadas nas categorias de telas sintéticas e biológicas.

As próteses biológicas são derivadas principalmente de tecidos humanos, porcinos ou bovinos ricos em colágeno. No caso das telas sintéticas, podem ser absorvíveis (ácido poliglicólico ou carboxilcelulose), ou permanentes (polipropileno, poliéster e politetrafluoroetileno expandido), e recentemente telas multicamadas desenvolvidas com base em telas sintéticas modificadas para obtenção de diferentes propriedades de adesão também foram lançadas no mercado [4]. O reparo da hérnia é um dos procedimentos cirúrgicos mais comumente realizados em todo o mundo, com um mercado global de vários bilhões de dólares [5].

Os materiais em contato com tecido vivo para tratamento de doença ou lesão, que promovem restauração da função dos tecidos e órgãos do corpo são tradicionalmente definidos como biomateriais [6]. Os biomateriais são utilizados em dispositivos médicos e recentemente têm alcançado alta sofisticação devido às novas tecnologias empregadas em sua fabricação. A caracterização micrométrica é importante no caso de biomateriais para substituição de tecidos e suportes para crescimento celular, uma vez que essas características são importantes para manipular a proliferação e diferenciação celular na região do tecido a ser substituído [2].

Um material ao ser implantado no organismo é reconhecido pelo corpo humano como um material exógeno causando uma reação de corpo estranho com a formação de um revestimento fibroso na interface [7]. A infecção protética está entre as complicações mais devastadoras para o paciente, e uma vez dentro do organismo, as bactérias colonizam a superfície do biomaterial e os tecidos adjacentes [8].

Nesse contexto, o tratamento a plasma pode resultar em mudanças de uma variedade de características de superfície sem alterar as propriedades de volume. A modificação de superfícies a plasma é considerada uma forma econômica e eficaz de processamento de materiais, e cada vez mais vem sendo utilizada no campo biomédico [9].

Filmes finos depositados a plasma possuem muitas vantagens no revestimento de biomateriais, já que são aplicáveis a diferentes materiais (metais, polímeros, cerâmicas e compósitos) e geometrias de amostras, tem fácil preparação, é uma técnica confiável, reprodutível e relativamente barata, e podem ser ampliadas para a produção industrial [10].

Em vista disso, a tecnologia de deposição a plasma foi utilizada para o revestimento de biomateriais comerciais, telas sintéticas de polipropileno para correção de hérnias, com nanofilmes de carbono amorfo e prata. A problemática relacionada ao uso das telas

poliméricos de uso cirúrgico e a solução proposta por meio deste trabalho são discutidas a seguir.

1.1 Motivações e Justificativas

O reparo de hérnias está entre os procedimentos cirúrgicos mais realizados em todo o mundo com até 20 milhões de procedimentos realizados anualmente e estimativa de mercado de US\$ 6,1 bilhões até o ano 2020, como apresentado na gráfico da Figura 2 [5].

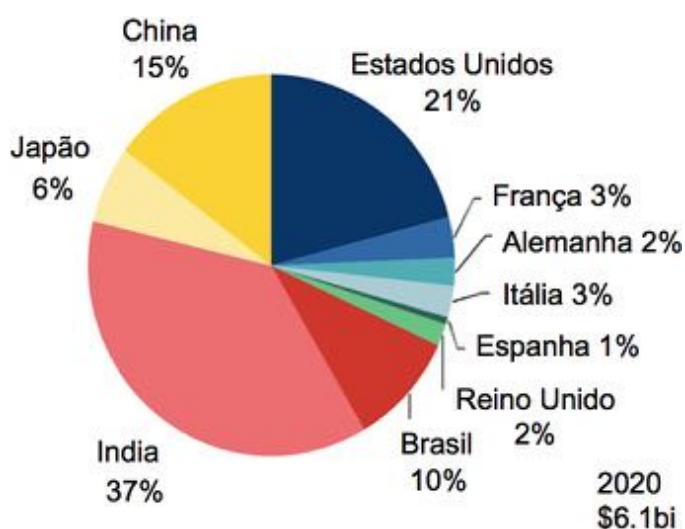


Figura 2. Estimativa para o Mercado Global de Dispositivos para Reparo de Hérnia até 2020.

Além disso, a crescente prevalência de cirurgias abdominais e comorbidades, incluindo obesidade, levam a um risco aumentado de desenvolvimento e recorrência de hérnias na população, por exemplo, das 4 milhões de laparotomias realizadas anualmente apenas nos EUA, até 800.000 pacientes desenvolverão complicações na forma de hérnia incisional [5].

O DATASUS [11] disponibiliza dados que podem servir para subsidiar análises relevantes para a quantificação e avaliação das informações em saúde no Brasil, no período de 2014 a 2016 foram registradas mais de 700.000 internações e 2000 óbitos relacionados a cirurgias de hérnias somente no sistema público de saúde, contabilizando gastos de 480 milhões de reais. Os dados das internações por hérnia no Sistema Único de Saúde (SUS) para este período se encontram na Figura 3.

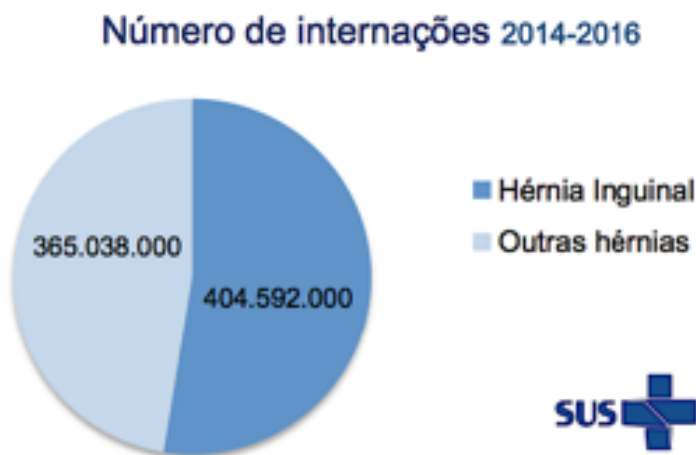


Figura 3. Dados de internações por hérnias no Sistema Único de Saúde - SUS.

Mais de 90% das internações por hérnia necessitam de reparos com um material ou dispositivo protético, e apesar dos inúmeros produtos disponíveis no mercado, a tela de polipropileno (PP) continua a ser o material mais popular na reparação de hérnias por se tratar de um material barato, de fácil manuseio, flexível e resistente à infecção [12]. Devido ao seu baixo custo e popularidade, a tela de polipropileno, mostrada na Figura 4, é o dispositivo protético utilizado pelo Sistema Único de Saúde.

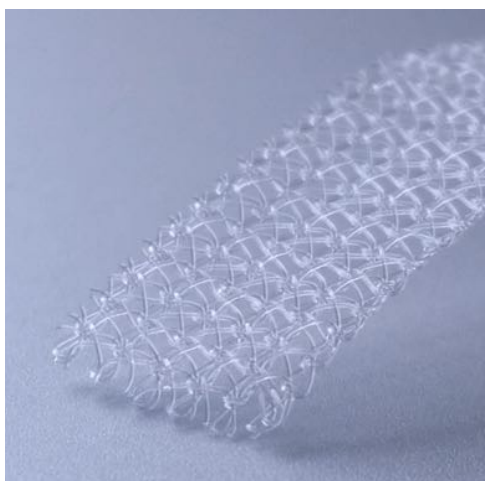


Figura 4. Tela protésica Intracorp® para reparo cirúrgico de hérnias.

Apesar da tela de polipropileno ser a prótese mais utilizada para o reparo cirúrgico de hérnias, provoca uma resposta inflamatória crônica que leva a uma diminuição da incorporação do tecido da parede abdominal, maior contração do material e formação de cicatrizes, degradação da prótese via oxidação modificando suas propriedades mecânicas e

recorrência [3].

Infecções relacionadas às telas para reparos de hérnias são consideradas um desastre cirúrgico e entre os possíveis caminhos para o progresso, abordagens cirúrgicas criteriosas e tecnologias inovadoras são vistas como cruciais neste campo desafiador [13]. Conforme ilustrado na Figura 5, a comunidade de hérnia está mostrando interesse crescente neste campo, com um aumento contínuo de relatórios publicados com diferentes estratégias visando prevenir infecções dos implantes.



Figura 5. Citações de infecções de telas para reparo de hérnias por ano [13].

A capacidade de um implante realizar sua função *in vivo* prevista depende de muitos fatores, incluindo sua composição, propriedades mecânicas, topografia superficial, capacidade de resistir à infecção e colocação cirúrgica adequada. Contudo, a resposta do hospedeiro, em última análise, determina o sucesso/falha e a eficácia da prótese no cenário clínico [14].

A problemática associada ao uso cirúrgico da tela de polipropileno comumente utilizada para o reparo de hérnias, gera a necessidade da busca pelo aprimoramento do material com resposta inflamatória mínima visando a manutenção da saúde e bem estar dos pacientes, bem como a diminuição de gastos públicos relativos a sua utilização.

1.2 Objetivos

Este trabalho tem como objetivo principal a investigação da modificação superficial de telas cirúrgicas de polipropileno por filmes finos de prata e carbono tipo diamante (*diamond*

like carbon - DLC). Para isso, alguns objetivos específicos foram delineados:

- (1) Deposição de filmes finos de DLC e prata em telas comerciais de polipropileno através da técnica de *magnetron sputtering*;
- (2) Caracterização físico-química dos filmes depositados com ênfase em propriedades de superfície;
- (3) Caracterização mecânica das telas poliméricas processadas;
- (4) Estudos biológicos de citotoxicidade e adesão microbiana *in vitro*.

1.3 Organização do trabalho

Neste primeiro capítulo foram apresentadas as considerações iniciais do trabalho, as respectivas motivações e objetivos delineados. No segundo capítulo encontra-se a revisão bibliográfica em que são abordados os tópicos necessários para a melhor compreensão do trabalho. As principais discussões relacionam-se ao uso de telas sintéticas na reparação de hérnias, a utilização da prata e do carbono tipo diamante (*Diamond like carbon* – DLC) na medicina e técnicas de modificação superficial por deposição a plasma para revestimento de biomateriais.

No terceiro capítulo são apresentados os materiais e métodos necessários para o desenvolvimento da pesquisa, o aparato experimental, os parâmetros de deposição utilizados no processo, as técnicas de caracterização realizadas para as análises dos filmes finos e as metodologias empregadas nos ensaios biológicos.

No quarto capítulo são discutidos os resultados obtidos fundamentados nas caracterizações físico-químicas, mecânica e biológicas das amostras, e no quinto capítulo são apresentadas as conclusões alcançadas.

No sexto capítulo se encontra a proposição para trabalhos futuros e no capítulo sete as referências bibliográficas utilizadas para o desenvolvimento do trabalho.

2 Revisão Bibliográfica

Neste capítulo são apresentados os tópicos necessários para o estudo e desenvolvimento do trabalho, que vão das telas sintéticas para o reparo de hérnia começando com uma descrição da anatomia e do surgimento da doença, para os materiais disponíveis no mercado, com destaque para as telas de polipropileno, e as complicações associadas à implantação de dispositivos médicos no organismo. Seguido de uma breve discussão sobre a utilização da prata e do DLC na medicina e das tecnologias de revestimento de biomateriais utilizadas atualmente, com enfoque nas vantagens e aplicações do processamento a plasma.

2.1 Tela sintética para reparo de hérnias

A hérnia é uma protrusão de um tecido/órgão ou parte dele através de uma área debilitada na membrana da cavidade que o envolve, como resultado de trauma ou cirurgias de incisão. Também pode resultar de várias condições patológicas, como defeitos congênitos da membrana, pressão intra-abdominal excessivamente alta como resultado de obesidade, ascite, esforço devido à hipertrofia prostática benigna ou constipação, gravidez e doenças pulmonares em conjunto com tosse crônica [15].

Outros fatores que predispõem ao desenvolvimento de um defeito fascial incluem tabagismo (interrupção da produção de colágeno), problemas nutricionais, uso de esteróides e envelhecimento [16]. Também é uma complicação comum de cirurgias abdominais, ocorrendo em 2% a 35% das laparotomias, apresentando número considerável de pacientes com estrangulamento intestinal (2%) e encarceramento (6-15%), causando morbidade e mortalidade significativas [17].

O desenvolvimento de uma infecção na ferida pós-operatória aumenta o risco de herniação em cinco vezes, onde quase 30% dos pacientes que desenvolvem uma infecção da ferida incisional pós-operatória desenvolverão eventualmente uma hérnia incidível [16, 18]. As hérnias mais comuns são classificadas como inguinal, ventral, incisional, femoral, umbilical, hiatal e epigástrica, sendo as hérnias inguinais representantes de quase dois terços de todos os procedimentos de hérnia da parede abdominal [19].

A parede abdominal consiste em múltiplas camadas constituídas de pele, gordura subcutânea e fáscia de Scarpa, músculo externo oblíquo, músculo interno oblíquo, músculo abdominal transverso, músculo abdominal reto, fáscia transversal e peritônio [5]. Esses grupos musculares conferem ao abdômen força mecânica e elasticidade suficientes para suportar as pressões geradas pelos órgãos internos [20]. Uma representação detalhada da parede abdominal e seus componentes é mostrada abaixo na Figura 6.

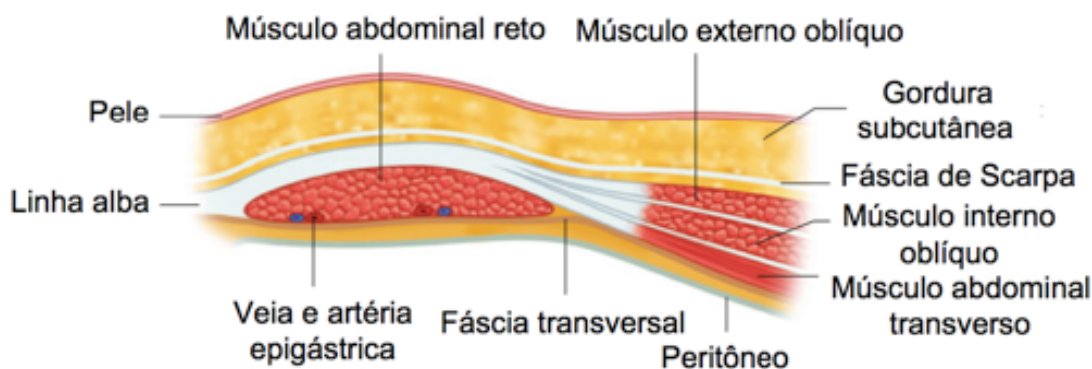


Figura 6. Representação detalhada da parede abdominal humana e seus componentes.

Adaptado de [20].

Os procedimentos cirúrgicos desenvolvidos para reparar patologias da parede abdominal, como hérnias, evoluíram nas últimas décadas. Os métodos tradicionais, como a autoplastia e reparo de sutura, foram gradualmente substituídos por implantes prostéticos que conseguem uma redução significativa na incidência de recorrência da hérnia [21]. Atualmente, estima-se que mais de 90% das operações de hérnia envolvam a colocação de uma prótese, seja laparoscopicamente ou usando técnica aberta [22, 23].

Telas para reparo de hérnias são materiais implantados no organismo para reforçar a parede abdominal com a formação de tecido cicatricial, e ao longo dos anos, diferentes tipos de telas disponíveis cresceram tremendamente [12]. O uso da tela polimérica foi descrito pela primeira vez por Usher em 1958, mas popularizado por Liechtenstein cerca de 30 anos depois [24].

Os requisitos básicos de um material para o reparo de hérnia foram descritos nos anos 1950, e desde então, os esforços de pesquisa têm como objetivo projetar e desenvolver o material prostético ideal. A tela ideal deve induzir adesões e reações inflamatórias mínimas, boa vascularização, boa incorporação de tecido, estabilidade em contato com fluidos corporais, resistência à esterilização, ser quimicamente inerte, não cancerígena ou alergênica e ser resistente à infecção [4, 5, 12].

Estas características estão ligadas não somente à escolha do material mas também a estrutura do implante, onde relativamente poucos polímeros são utilizados para a fabricação de telas cirúrgicas mas grande variedade de conformações têxteis podem ser encontradas. Essas características, evidenciadas na Figura 7, estão relacionadas com as propriedades mecânicas e as interações do material em ambiente biológico, influenciando o desempenho final do implante [4].



Figura 7. Propriedades ligadas ao desempenho das telas cirúrgicas. Adaptado de [4].

A tela de polipropileno é a prótese sintética mais comumente utilizada no mundo, devido ao seu baixo custo, sua flexibilidade, estimulação do crescimento celular, resposta inflamatória satisfatória e facilidade de manuseio [12]. As fibras de polipropileno semicristalino são extrudadas e, em seguida, tecidas em malhas mono ou multifilamento, e são resistentes a muitos solventes químicos, bases e ácidos. No entanto, a tela de polipropileno apresenta degradação *in vivo*, onde as ligações C-H são rompidas criando um radical livre que se liga ao oxigênio ocorrendo cisão e/ou reticulação do polímero, aumentando a rigidez e contração da tela, o que pode resultar em recorrência da hérnia [25].

Coda et al. [26] propuseram um sistema de classificação de próteses poliméricas usadas para reparo de hérnia com base no peso do biomaterial. O peso da tela depende do polímero e da quantidade de material usado, em que as telas com peso por unidade de área

superior a 140 g/m² são definidas como sendo de alta densidade, telas com peso por unidade de área na faixa de 35-70 g/m² são definidas como de baixa densidade e telas com peso por unidade de área na faixa de 70-140 g/m² são definidas como telas padrão.

As telas de polipropileno de alta densidade possuem fibras mais espessas e alta resistência à tração, e foram identificadas em estudos *in vivo* por induzir uma intensa reação de corpo estranho e formação de aderências quando em contato com conteúdos intra-abdominais [27, 28]. A resistência à tração necessária para suportar a pressão abdominal máxima é apenas um décimo da resistência à tração das telas comerciais, e esperava-se que as melhores telas fossem aquelas feitas de um material muito forte e capaz de induzir a maior fibrose [12].

Porém, uma intensa reação fibrótica leva à restrição de movimentos e dor aos pacientes, e para contornar este problema a área de superfície da tela tinha que ser reduzida, levando ao próximo passo na evolução da tela de polipropileno com a introdução de telas de baixa densidade. Esse tipo de tela foi comercializado pela primeira vez em 1998 como Vypro, reduzindo a reação fibrótica ao material mas mantendo força de tração suficiente para suportar as pressões intra-abdominais máximas, além de promover uma melhor resposta tecidual [9, 25].

Alternativas à tela de polipropileno foram introduzidas ao longo dos anos como o politetrafluoroetileno expandido (ePTFE), telas sintéticas absorvíveis como a tela Vicryl macroporosa, BioA (W.L. Gore & Associates) e TIGR mesh (Novus Scientific), compostas por polímeros degradáveis (como ácido polilático e ácido poliglicólico). Apesar da vantagem de uma resposta menos agressiva, a reação de corpo estranho não é eliminada e complicações como recorrência, infecção e formação de adesão persistem; levando ao surgimento de telas sintéticas revestidas e telas biológicas (implantes constituídos de tecidos porcinos, bovinos ou cadavéricos) [12, 23].

Para o revestimento das telas comerciais sintéticas são utilizados diferentes materiais como colágeno, titânio, ácido hialurônico, carbonato de prata, diacetato de clorexidina, ácido graxo omega-3 e outros polímeros degradáveis. Alguns revestimentos são aplicados nas fibras individuais da tela, e outros são aplicados somente no lado visceral para evitar aderências. Embora os revestimentos possam reduzir a resposta inflamatória inicial, a estabilidade pode ser importante para o sucesso a longo prazo, porém, evidências clínicas mostraram que alguns dos revestimentos são instáveis ao longo do tempo e desintegram-se, deixando o polímero subjacente suscetível à degradação [25].

Na Figura 8 são mostrados dois exemplos de telas revestidas disponíveis no mercado, como a Gore DualMesh Plus (W.L. Gore & Associates), composta por duas superfícies de ePTFE revestidas com carbonato de prata e diacetato de clorexidina, e a tela de polipropileno de baixa densidade revestida com titânio TiMesh (Biomet, Inc.). Embora inúmeros pacientes tenham se beneficiado de cada um desses materiais, nenhum deles produziu um resultado superior para todos os tipos de hérnias, e dada a existência de inúmeras telas disponíveis no mercado, criou-se um desafio para muitos cirurgiões em selecionar a melhor prótese. O tamanho do defeito, localização, comorbidades do paciente, presença de contaminação, e o histórico de reparos prévios com ou sem uma prótese pesam na abordagem de reparo final [29].

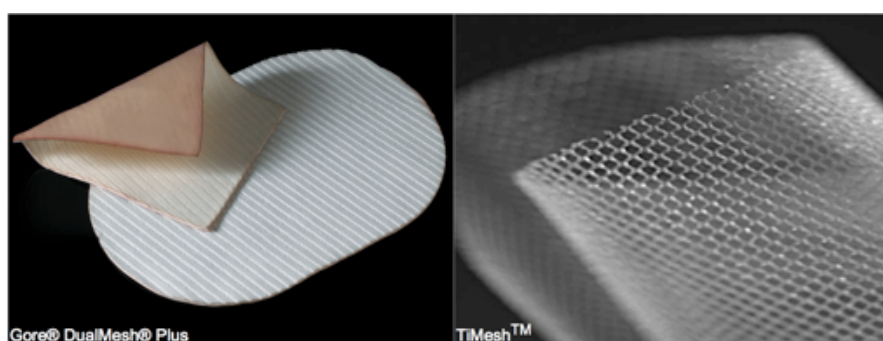


Figura 8. Design de telas comerciais Gore DualMesh Plus e TiMesh [25].

O uso de telas sintéticas e não sintéticas projetadas para o reparo de hérnias não está completamente isento de complicações. No entanto, as medidas de sucesso podem ser igualmente ambíguas, onde o design do implante continua a ser um desafio crítico para o reparo bem sucedido e a prevenção de hérnias recorrentes, e apesar do progresso significativo, não existe uma tela ideal e economicamente acessível para todas as cirurgias [4, 29].

As propriedades mecânicas são parâmetros importantes a serem considerados ao se determinar a adequação de uma determinada tela para uma situação clínica específica, já que para cada implante disponível no mercado há uma combinação única de sua conformação têxtil, que depende do processo de fabricação, e da matéria-prima utilizada [30]. Dentre essas propriedades estão o limite de resistência à tração (σ_{UTS}), limite de escoamento (σ_e), módulo de elasticidade (E), módulo de resiliência (U_r), módulo de tenacidade (U_t), deformação máxima ($\epsilon_{m\acute{a}x}$) e ductilidade (% El).

As características mecânicas acima mencionadas permitem avaliar a biocompatibilidade mecânica da tela, que está diretamente relacionada a sua integração com o

tecido nativo circundante. Poucas orientações são dadas na literatura sobre os requisitos mecânicos das telas para a cirurgia da parede abdominal. A primeira consideração em muitos estudos sobre as propriedades mecânicas das telas se concentram principalmente na resistência das próteses sob carga fisiológica [31, 32]. Em que o valor de referência corresponde a uma força de cerca de 16 N/cm exercida no abdômen para adultos jovens e saudáveis em repouso, a carga máxima na virilha também é estimada em 16 N/cm por causa da anatomia esférica [33].

Pesquisadores determinaram a força máxima aplicada na parede abdominal após a cirurgia de reparo da hérnia como 22 N/cm na direção craniana/caudal e 32 N/cm na direção lateral [34, 35]. Deeken et al. [36] mostraram que o estresse na direção transversal pode atingir níveis de 47,8 N/cm em homens obesos com grande circunferência abdominal.

A resistência à tração superiores a 100 N/cm de muitas telas sintéticas convencionais são desproporcionais e não são necessárias para uma reparação efetiva, visto que ao atingir uma resistência à tração de pelo menos 32 N/cm já seria suficiente para aplicação intra-abdominal [37]. Na Figura 9, constam os valores de resistências à tração de algumas telas convencionais disponíveis no mercado em relação a resistência de 32 N/cm que é considerada suficiente para o sucesso do reforço mecânico pelo implante.



Figura 9. Comparação da resistência à tração de diferentes telas comerciais. A linha vermelha indica a força de tração mínima exigida pela tela para sustentar o reparo da hérnia (32 N/cm).

Adaptado de [38].

Mesmo que uma malha possa suportar facilmente a tensão devido à pressão fisiológica exercida na parede abdominal, é relatado que uma grande tensão de tração é capaz de induzir uma modificação no comportamento mecânico de malha, levando a um possível desconforto ou dor aos pacientes [39]. Por essa razão, uma avaliação biomecânica não pode ser limitada exclusivamente à comparação de valores de resistência à tração.

2.2 Resposta imunológica associada ao uso de biomateriais

Embora as propriedades físicas e mecânicas de um biomaterial no momento da implantação sejam importantes por razões óbvias, essas propriedades são igualmente importantes a longo prazo, especialmente para implantes destinados a permanecerem *in situ*. Neste caso, a resposta imune do hospedeiro pode degradar, destruir, encapsular ou alterar a composição do biomaterial ao longo do tempo, resultando em mudanças na forma e nas propriedades mecânicas do próprio material. Dessa forma, não somente as propriedades do biomaterial determinam o seu desempenho, mas também a resposta do hospedeiro ao longo do tempo [40].

Os biomateriais podem promover processos inflamatórios que levam à reação de corpo estranho, formação de cicatrizes e processos inflamatórios crônicos [41-43]. O grau em que os mecanismos homeostáticos são perturbados, as condições fisiopatológicas criadas e a resolução da resposta inflamatória podem ser consideradas uma medida da reação do hospedeiro [44].

Imediatamente após a implantação de um biomaterial em ambiente biológico, é iniciada a ativação do sistema imune e a adsorção superficial de proteínas de baixo peso molecular, geralmente anticorpos envolvidos em mecanismos de defesa fisiológica como albuminas e imunoglobulinas. A adsorção de proteínas a uma superfície é um processo altamente complexo e dinâmico, e ao longo do tempo, as proteínas inicialmente adsorvidas são deslocadas por outras maiores e menos móveis, apresentando uma afinidade mais pronunciada com a superfície do material [45].

Esse fenômeno é comumente conhecido como efeito Vroman [14, 45], e no final desse processo uma camada de proteínas e matriz extracelular cobre a superfície do biomaterial, comumente referida como camada de condicionamento, mediando as interações com o sangue, tecidos, fixação e diferenciação celular, e adesão bacteriana [46].

A resposta inflamatória está envolvida no processo de cicatrização e compreende uma fase aguda inicial e uma fase crônica subsequente, onde em poucos minutos de implantação ocorre resposta celular predominante por neutrófilos na interface biomaterial na tentativa de neutralizar o corpo estranho [44]. A resposta por neutrófilos atinge um pico dentro de 48-72 horas após a implantação, e além de eliminar agentes patogênicos que possam estar presentes no local do tratamento, desempenham papel importante na iniciação da formação do tecido de granulação e no estabelecimento de gradientes de sinalização que atraem e ativam outros componentes do sistema imune inato [47].

Como resultado dos gradientes de sinalização estabelecidos pelos neutrófilos, a resposta imune transita para um infiltrado dominante de macrófagos substituindo lentamente os neutrófilos acumulados na interface do biomaterial. Apesar da fagocitose destas células ser ineficiente em degradar a prótese, a presença dos macrófagos e polimorfonucleares produzem metabólitos ativos de oxigênio que em níveis elevados podem ter efeitos negativos como lesão tecidual e complicações devido à reação inflamatória excessiva [48, 49]. Além de enzimas, os macrófagos ativados produzem citocinas, que têm a função de modular outras células na resposta inflamatória.

O estágio final da reação de corpo estranho envolve o encapsulamento da prótese por uma membrana fibrosa de até 200 μm de espessura, impedindo sua interação com o tecido circundante podendo levar à falha do dispositivo implantado [44]. Muitos grupos de pesquisa têm se concentrado na modificação da composição, superfície, estrutura ou morfologia do biomaterial para reduzir a espessura da cápsula e/ou melhorar a angiogênese [50].

A colocação *in vivo* de dispositivos médicos requer injeção, inserção ou implantação cirúrgica causando lesão tecidual associada, em estudo Béllon et al. [51] apontaram que o comportamento da prótese nas primeiras horas pode refletir na possível integração a longo prazo de diferentes tipos de tela aos tecidos. A forma e topografia da prótese implantada determinam a composição final da reação tecidual, que consiste basicamente da migração e ativação de macrófagos, proliferação de fibroblastos, deposição de colágeno e neovascularização [52].

A resposta inflamatória, cicatrização e reação de corpo estranho fornecem a base para determinar a biocompatibilidade do dispositivo, que pode ser definida como a capacidade de um material executar aplicação específica com resposta apropriada do hospedeiro [53]. A avaliação da biocompatibilidade relaciona as propriedades do material com o desempenho, e é considerada uma medida da magnitude e duração das alterações adversas nos mecanismos homeostáticos que determinam a resposta do hospedeiro [54].

2.3 Infecções associadas ao uso de biomateriais

Infecções associadas ao uso de biomateriais continua a ser um grande desafio clínico não resolvido e um fardo econômico significativo, uma vez que aproximadamente 70% das infecções nosocomiais estão associadas a dispositivos médicos implantados [55]. As consequências médicas comuns dessas infecções incluem necrose do tecido, infecções sistêmicas, cirurgias múltiplas, custos médicos disparados, mau funcionamento do dispositivo e morte [56].

As abordagens clínicas para este desafio são multifatoriais, envolvendo técnicas cirúrgicas, protocolos, instalações de salas de operações, procedimentos hospitalares pré e pós-cirúrgicos, projetos de dispositivos, e inovações antimicrobianas. Embora essas abordagens demonstrem alguma métrica na eficácia da redução do risco de infecção, todos os dispositivos atuais, incluindo aqueles com tecnologias antimicrobianas, permanecem suscetíveis a infecções [57].

Geralmente, as infecções relacionadas à dispositivos médicos ocorre em dois estágios, interação rápida e reversível dos microorganismos na superfície mediadas por fatores físico-químicos e adesão irreversível dos microorganismos mediada por fatores celulares e moleculares [58, 59]. A aderência bacteriana bem sucedida e persistente a um implante permite a colonização e a subsequente formação de comunidades complexas de microorganismos sésseis fortemente ligados ao substrato, conhecido como biofilme [60, 61].

Os microrganismos têm a capacidade de aderir às superfícies incluindo as de materiais inertes, polímeros sintéticos e dispositivos médicos residentes, o que leva à colonização e desenvolvimento de biofilmes, além disso, o desprendimento celular de biofilmes maduros leva a disseminação e transmissão da infecção [62, 63]. O ambiente biológico que envolve o biomaterial também pode favorecer a aderência bacteriana, em que a camada de condicionamento que se forma na superfície do implante facilita a adesão bacteriana ao material, aumentando o risco de infecção protética e afetando o processo de cicatrização [8, 57].

Os macrófagos hospedeiros respondem naturalmente ao trauma da ferida associado à colocação do implante, limpando detritos e microrganismos do local por fagocitose. A proliferação de patógenos internalizados dentro das células inflamatórias do hospedeiro pela absorção de macrófagos de cepas bacterianas oferece proteção contra antibióticos e o sistema imune do hospedeiro [64]. A vascularização reduzida devido à colocação de uma prótese

também diminui o transporte de antibióticos para o local do implante [65, 66].

Biofilmes são colônias organizadas de microrganismos aderidos a uma superfície e embebidas por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares que protegem as células individuais de fatores hostis, como limitações de nutrientes, sistema imunológico e agentes antibacterianos [67]. O ciclo de vida do biofilme está ilustrado na Figura 10.

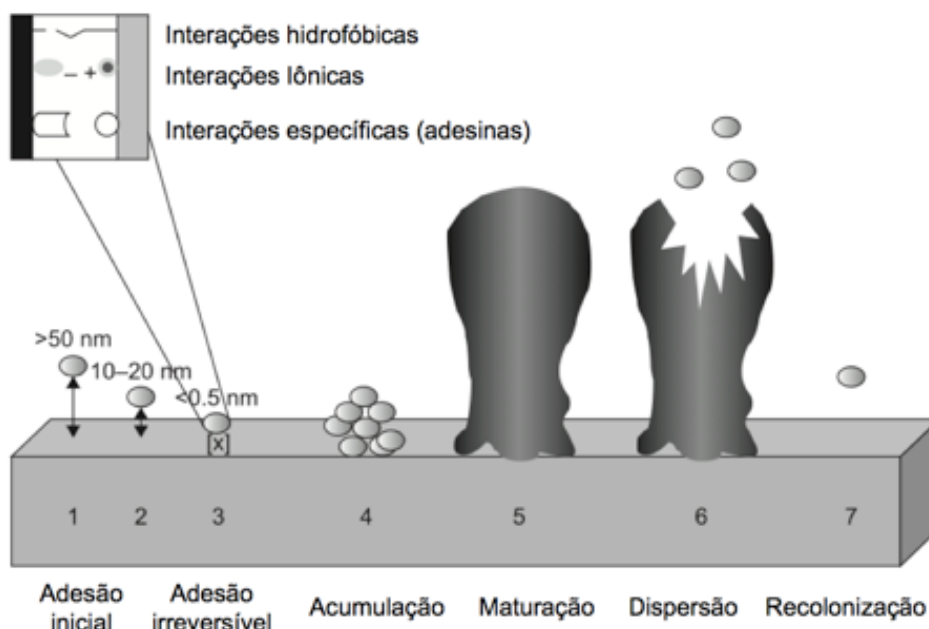


Figura 10. Ciclo de vida de biofilmes inclui três fases principais: aderência, acumulação e dispersão. A aderência pode ser definida em três subfases: (1) translocação para o substrato superficial, (2) adesão reversível inicial e (3) adesão irreversível envolvendo adesinas específicas do local. O estágio final consiste na dispersão de células para a colonização de novas superfícies. Adaptado de [64].

Dentro do biofilme, as bactérias sofrem uma série de modificações fenotípicas [61], conferindo ao biofilme ainda mais resistência, que pode ser entre 10 e 1000 vezes maior do que a demonstrada por células planctônicas [68, 69]. Conseqüentemente, as infecções protéticas associadas a biofilmes são particularmente difíceis de erradicar e geralmente requer a remoção do implante infectado e o desbridamento completo do local do implante [70].

Os tipos de microrganismos infecciosos cultivados em dispositivos implantados são altamente diversificados, havendo maior frequência de bactérias comensais muitas vezes provenientes do hospedeiro, que oportunamente formam biofilmes em implantes [71]. As bactérias Gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*,

estão localizadas em cerca de 90% de todos os dispositivos médicos implantados [72-75]. Outros organismos Gram-negativos comuns incluem *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris* [76, 77], e biofilmes fúngicos, especialmente *Candida albicans*, que demonstraram capacidade em inibir a penetração de fluconazol [78].

A classificação de bactérias em Gram-positivas ou Gram-negativas está relacionada com as diferenças na arquitetura da parede celular. A parede celular Gram-positiva consiste de uma camada espessa de peptidoglicanos (~ 30 nm), enquanto a parede celular da Gram-negativa apresenta estrutura e composição mais complexa consistindo em peptidoglicanos (~ 10 nm), proteínas, lipopolissacarídeos e fosfolipídeos, podendo ser infecções mais difíceis de erradicar [79].

Em geral, biofilmes são constituídos por múltiplas espécies que dão origem a uma gama de infecções crônicas difíceis de erradicar, afetando a qualidade de vida dos pacientes e as taxas de mortalidade [80]. Os pacientes idosos e imunocomprometidos apresentam maior risco de adquirir infecções associadas a biofilmes [81]. O aumento da utilização de próteses e o uso generalizado de antibióticos levou a complicações associadas ao aumento da patogênese de células produtoras de biofilmes e do risco de infecções causadas por microrganismos resistentes a fármacos, onde as cepas que apresentam resistência a medicamentos estão associadas a 60% das infecções de dispositivos médicos implantados [82-84].

No caso de intervenções cirúrgicas relativas a hérnias, as infecções da prótese em operações abertas são estimadas em 2% a 4% para o reparo da hérnia inguinal e 6% a 10% para o reparo da hérnia incisional [85]. Para os procedimentos de reparo da hérnia incisional laparoscópica, essa incidência cai para 3,6% [86, 87]. Em geral, a prevalência da infecção por biomateriais é maior na hérnia incisional, geralmente muito mais complexa do que a hérnia inguinal [8].

O design das telas protéticas desempenha um papel fundamental na aderência bacteriana [88-90], em que quanto mais complexa a sua estrutura, maior o risco do biomaterial ser colonizado por microrganismos [91]. Em circunstâncias ideais a tela implantada se incorpora nos tecidos circundantes através da infiltração fibrosa [92], no entanto, foi sugerido que todas as telas têm o potencial de se infectar, onde o tipo de prótese não afeta necessariamente no surgimento de uma infecção protética mas sim na necessidade de explantação do material [93].

O risco de infecções causadas pela formação de biofilmes microbianos na superfície das telas utilizadas no reparo da hérnia da parede abdominal compreende uma ampla faixa,

relatada em até 10% dependendo do tipo da tela e técnica cirúrgica utilizada [93, 94]. Nestes casos, a remoção da malha é frequentemente defendida, uma vez que o tratamento tradicional com agentes antimicrobianos é frequentemente mal sucedido [95]. As características mais representativas das telas em relação à colonização bacteriana estão resumidas na Figura 11.

Tipo de Tela	Materiais mais representativos	Susceptibilidade à colonização
<i>Sintéticas</i>		
Reticular (monofilamento, multifilamento)	Não absorvível (PP, PE, PVDF) Absorvível (PLA, PGA, TMC)	Multifilamento > Monofilamento PE > PP, PVDF Absorvível > Não absorvível Componentes hidrofílicos aumentam o risco de adesão bacteriana
Laminar (microporosa, não porosa)	Não absorvível (PTFE, ePTFE) Absorvível (TMC)	Microporoso > Não poroso Ampla superfície propensa a ser colonizada por bactérias Uso não frequente
Compósitas	Material de integração: não absorvível (PP, PE) Barreira: não absorvível (PTFE, ePTFE) Absorvível (PEG, HA, PDS, celulose, PCG)	Ampla superfície propensa a ser colonizada por bactérias Barreira absorvível > Não absorvível
<i>Biológicas</i>		
Reticulada (alogênica, xenogênica)	Colágeno, degradação lenta da matriz	A reticulação pode aumentar a adesão bacteriana
Não reticulada (alogênica, xenogênica)	Colágeno, degradação rápida da matriz	As metaloproteases bacterianas aumentam a degradação

ePTFE = politetrafluoroetileno expandido; HA = ácido hialurônico; PDS = polidioxanona; PE = poliéster; PEG = poli (etilenoglicol); PGA = poli (ácido glicólico); PGC = poliglicaprone; PLA = poli (ácido láctico); PP = polipropileno; PTFE = politetrafluoroetileno; PVDF = fluoreto de polivinilideno; TMC = carbonato de trimetileno.

Figura 11. Classificação dos materiais mais relevantes utilizados no reparo de defeitos da parede abdominal e sua susceptibilidade à contaminação bacteriana [8].

Apesar de diferentes abordagens preventivas e procedimentos de higiene mais rigorosos, infecções nosocomiais são difíceis de evitar inteiramente, e portanto, estratégias para prevenir a adesão de agentes patogênicos devem ser procuradas. Uma maneira promissora que ganhou destaque progressivamente ao longo dos anos para combater infecções relacionadas a implantes, é a utilização de biomateriais antimicrobianos [61].

Poucos dispositivos clínicos aprovados pelas agências reguladoras foram originalmente projetados para transportar drogas ou propriedades antimicrobianas, no entanto,

as tentativas atuais de adicionar benefícios antimicrobianos às classes de dispositivos existentes nem sempre são simples e efetivas [96]. Os revestimentos usados para bloquear a conexão microbiana também interferem no recrutamento de células hospedeiras e na integração do implante, onde as modificações topológicas podem alterar as propriedades mecânicas da prótese [8]. As telas de uso cirúrgico comercializadas com propriedades antimicrobianas estão especificadas na Tabela 1.

Tabela 1. Telas cirúrgicas antimicrobianas comercializadas [57].

Produto	Fabricante	Agentes
GORE® MYCROMESH® PLUS GORE® DUALMESH® PLUS	Gore	Carbonato de prata e diacetato de clorexidina
AIGIS _{RX} TM	TyRx, Pharma, Inc.	Minociclina e rifampicina
FEG Textiltechnik	FEX	Gentamina

As pesquisas de dispositivos antimicrobianos muitas vezes são realizadas com ensaios simples *in vitro* e reivindicações exageradas de eficácia, possuindo pouca relevância para condições operacionais *in vivo* e pouca confiabilidade preditiva [96]. Em muitos casos, os dados clínicos existentes para melhorar o desempenho dos implantes antimicrobianos são inconclusivos ou contraditórios, existindo uma necessidade clínica urgente para desenvolver materiais biomédicos duradouros ou dispositivos com superfícies antibiofilmes. Os desafios de biocompatibilidade para diversos contextos clínicos de dispositivos médicos implantáveis, são ainda mais complicados quando propriedades antimicrobianas de superfície são adicionadas ao biomaterial [57].

2.4 Revestimento de biomateriais

Na tentativa de diminuir as reações de corpo estranho e mitigar infecções associadas aos dispositivos implantados, uma variedade de revestimentos biocompatíveis e antimicrobianos evoluíram drasticamente nos últimos dois anos. As tecnologias iniciais eram focadas em revestimentos à base de difusão de antibióticos, oferecendo efeito antimicrobiano a curto prazo, já as tecnologias recentes buscam revestimentos com atividade antimicrobiana mais duradoura [97].

Os revestimentos contendo antibióticos ou medicamentos antifúngicos têm potencial para causar toxicidades a longo prazo e levar ao desenvolvimento de microrganismos resistentes aos medicamentos [98]. Com o objetivo de ampliar a duração da liberação e melhorar o carregamento dos fármacos, muitos revestimentos começaram a incorporar porções de alta afinidade, como a ciclodextrina (CD), que permitem o encapsulamento de fármacos hidrofóbicos através da formação de um complexo de inclusão de fármacos [99].

Alternativamente, outra abordagem com o desenvolvimento de revestimentos metálicos [100-104] e baseados em polímeros [105-108], mostrou potencial para aplicações mais duradouras e a vantagem de possuir propriedades antibacterianas e antifúngicas sem o uso de drogas, reduzindo o risco do desenvolvimento de cepas resistentes aos medicamentos.

Muitos revestimentos à base de polímeros foram desenvolvidos com o uso de diferentes sais de amônio quaternário e polímeros catiônicos, que agem através da interrupção da membrana bacteriana usando cargas catiônicas ou por interações hidrofóbicas repelindo a adesão de bactérias [109-113].

Os revestimentos metálicos envolvendo a lixiviação de íons foram desenvolvidos com nanopartículas de prata, titânio, zinco e cobre [114-118], porém, a principal limitação desses revestimentos é que eles precisam liberar uma concentração de íons metálicos que seja efetiva para erradicar os microrganismos e suficientemente baixa para evitar toxicidades [103].

Grande variedade de revestimentos antimicrobianos pode ser utilizada para dispositivos médicos, e embora cada um tenha suas vantagens, nenhum deles é completamente eficaz para todas as aplicações. Muitas das tecnologias são relativamente novas, sendo necessário intensificar pesquisas para o melhoramento desses revestimentos e, além disso, a grande maioria só foi testada em configurações *in vitro*, necessitando realizar estudos em modelos *in vivo* e eventualmente ensaios clínicos para que, em última instância, possam ser implementados em uma configuração clínica. À medida que as mudanças de legislação estão colocando maior ênfase na prevenção de infecções, a necessidade de revestimentos antimicrobianos de longa duração continuará a se tornar mais prevalente [97].

A capacidade de produzir revestimentos nanoestruturados com maior nível de design e complexidade é ainda um desafio importante no desenvolvimento de novas aplicações em dispositivos. O desenvolvimento de técnicas econômicas e sustentáveis de fabricação em grande escala e produção de filmes finos funcionais de alta qualidade com nanoarquitetura controlável são fundamentais. Para a fabricação de materiais e dispositivos em nanoescala duas abordagens são mais utilizadas, de cima para baixo (*top-down*) e de baixo para cima (*bottom-up*) [119, 120].

A abordagem *top-down* geralmente usa métodos tradicionais com uso de ferramentas controladas para cortar e moldar materiais na estrutura desejada. Existe uma gama de processos que podem ser usados para produzir filmes nanoestruturados, sendo os avanços mais significativos referentes aos métodos físicos como diferentes técnicas litográficas [121], e a combinação de métodos físicos e químicos para impressão de padrão [122-125], entretanto, tais técnicas apresentam fortes limitações quanto ao escalonamento em aplicações práticas [126].

As abordagens *bottom-up*, em contraste, referem-se à produção de materiais átomo a átomo ou molécula a molécula, e a fabricação de filmes finos é realizada em grande maioria a partir de técnicas químicas, como processos sol-gel [127, 128], precipitação química [129, 130] e deposição química em fase vapor (*Chemical Vapor Deposition* - CVD) [120]. No entanto, para a produção de revestimentos finos e ultrafinos de compostos orgânicos e elementos inorgânicos a deposição CVD e PVD (*Physical Vapor Deposition* – PVD) são preferencialmente empregadas [9].

Na área da saúde, as técnicas assistidas a plasma são utilizadas de maneira bastante diversificada, com aplicação em higiene hospitalar [131], limpeza/esterilização [132, 133], tratamento antifúngico [134], tratamento dentário [135, 136], doenças da pele [137], feridas crônicas [138], tratamentos estéticos [139], geradores de ozônio [140] e engenharia de tecidos e cultura celular [141].

Sistemas de deposição tipo *magnetron sputtering* para deposição de filmes finos são baseados na técnica PVD de pulverização catódica (*sputtering*), em que o plasma se encontra confinado entre os eletrodos, devido à presença de um campo magnético formado por um conjunto de ímãs permanentes posicionados atrás do alvo que será bombardeado [142]. A Figura 12 mostra o desenho esquemático do processo de deposição por *magnetron sputtering*, em que os íons provenientes da descarga elétrica colidem com o alvo do qual são ejetados átomos que atravessam o plasma e se condensam sobre um substrato [141].

Esta técnica permite excelente controle da taxa de deposição, menor contaminação, uniformidade e adesão dos filmes mesmo em grandes áreas. Somadas com as inúmeras vantagens da deposição de filmes finos a plasma, dentre elas, fácil preparação, aplicável a diferentes materiais e geometrias de amostras, boa adesão, superfícies estéreis e excelentes barreiras de permeabilidade com baixo nível de lixiviação, sendo uma técnica confiável, reprodutível, relativamente barata e com possibilidade de ampliação para a produção industrial [10].

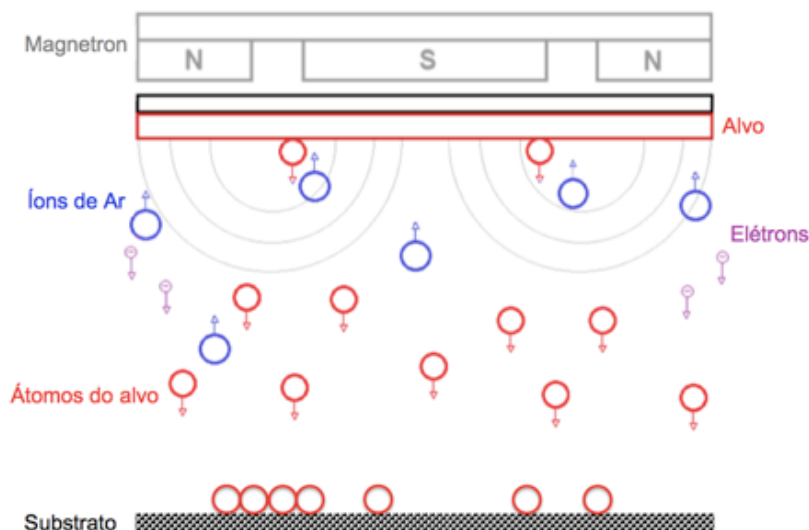


Figura 12. Desenho esquemático do processo de deposição por *magnetron sputtering*.

O processo de crescimento de filmes finos pode ser resumido como um processo estatístico de nucleação, crescimento controlado por difusão superficial dos núcleos tridimensionais, formação de uma estrutura de rede e seu subsequente preenchimento para formação de um filme contínuo. Historicamente, os filmes finos têm sido usados há mais de meio século na fabricação de dispositivos eletrônicos, revestimentos ópticos, revestimentos de ferramentas e peças decorativas [143].

Outro parâmetro relacionado a deposição de filmes finos por pulverização catódica é denominado rendimento de *sputtering*, que consiste no número de átomos desalojados da superfície do alvo por íon de bombardeamento e depende da massa do íon, da energia com que ele chega na superfície do alvo, e evidentemente do material que o alvo é constituído. O gráfico do rendimento de *sputtering* em função da energia do íon de argônio para o carbono e diferentes metais é mostrado na Figura 13.

O rendimento de *sputtering* da prata (em preto) e outros metais (demais cores), em relação ao carbono (em vermelho) é consideravelmente maior, podendo ser até 8 vezes superior em relação ao carbono.

A deposição de filmes finos na superfície de biomateriais aumenta a multifuncionalidade do dispositivo sem que haja comprometimento de suas propriedades de volume (*bulk*), e permite a produção de características desejadas para determinada necessidade médica [9].

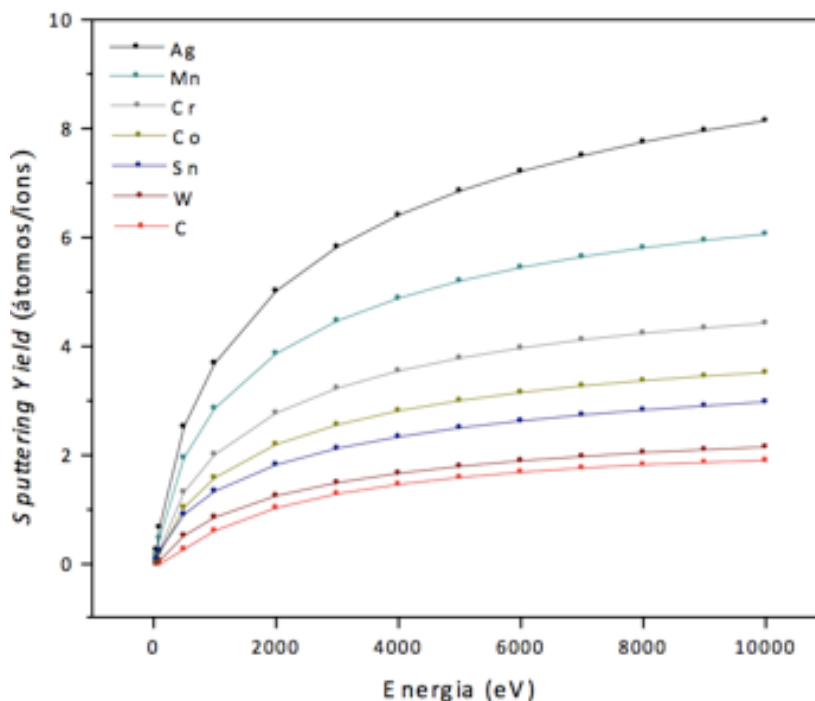


Figura 13. Rendimento de *sputtering* do carbono em relação a diferentes metais [144].

As propriedades de *bulk* são determinadas pela composição atômica e ligação interatômica, que resultam em um conjunto de características mecânicas, químicas, elétricas, acústicas, ópticas e magnéticas do material. Destacam-se as propriedades mecânicas como módulo de elasticidade, módulo de compressão, fadiga, viscoelasticidade e cisalhamento, que são características importantes para determinar a sua utilização no corpo, por exemplo, para substituição óssea e próteses [145].

Já as propriedades de superfície regem as interações que ocorrem na interface com o meio circundante. Para biomateriais implantados, uma das principais propriedades de superfície é a biocompatibilidade, que se refere a várias características do biomaterial que conduz à aceitação pelo corpo, tal como ausência de respostas trombogênicas, tóxicas ou inflamatórias a curto prazo, e ausência de efeitos carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos a longo prazo [7, 18].

A variação química da superfície pode modificar a compatibilidade do tecido *in vivo*, onde a espécie, densidade e composição dos grupos funcionais de superfície desempenham um papel importante no controle de reações protéicas, celulares e teciduais dos materiais implantados (Tabela 2) [146]. Entretanto, mais estudos são necessários para definir as interações entre a funcionalidade da superfície e a resposta do organismo, de modo a auxiliar no

desenvolvimento de superfícies adaptadas molecularmente para melhorar a função e segurança de muitos dispositivos médicos.

Tabela 2. Efeito dos grupos funcionais superficiais na resposta biológica [146].

Grupo Funcional	Resposta Biológica
-COOH Hidrofílico	Interação preferencial com fibronectina e albumina Aumenta a absorção de nanopartículas Atenua respostas inflamatórias Reduz a formação de cápsulas fibróticas <i>in vivo</i>
-OH Hidrofílico	Reduz a afinidade de proteínas plasmáticas Melhora a diferenciação e a mineralização de osteoblastos Cápsula fibrótica com altos níveis de infiltração celular <i>in vivo</i>
-CH ₃ Hidrofóbico	Liga-se ao fibrinogênio levando ao acúmulo de plaquetas Conduz a formação de cápsulas fibróticas espessas Alto recrutamento de células inflamatórias <i>in vivo</i> Aumento da adesão de leucócitos e migração de fagócitos Baixa hemocompatibilidade Adsorção de proteínas em conformações desfavoráveis para interações celulares desejadas

O desenvolvimento proeminente de abordagens nanotecnológicas visando prevenir, controlar e tratar infecções de dispositivos biomédicos são limitadas pela sua complexidade e elevados custos, surgindo a necessidade do desenvolvimento de alternativas mais econômicas, não tóxicas, biocompatíveis e que apresentem efeito contra amplo espectro microbiológico para estabelecer novos padrões no tratamento e prevenção de biofilmes patogênicos [67].

2.5 Prata na medicina

O uso medicinal da prata como agente antimicrobiano tem sido empregado por vários milênios, onde a sua utilização era baseada no folclore ou tradição, com aplicação mais antiga na desinfecção e armazenamento de água. A partir da década de 1970, soluções de prata a

0,5% e cremes de sulfadiazina de prata começaram a ser extensivamente aplicados em queimaduras [147].

Atualmente, o uso medicinal da prata se estende além de cuidados de queimaduras ou curativos de feridas. As investigações vigentes indicam que o uso de íons de prata, prata metálica e nanopartículas de prata podem ser explorados na medicina para o tratamento de queimaduras, materiais dentários, dispositivos médicos, medicamentos, tecidos, tratamento de água, filtros, protetor solar, cosméticos, confecção de roupas e etc [148, 149]. Não existe composto utilizado na prática médica contemporânea com uma história tão longa como a prata [150].

A eficácia antimicrobiana dos nanocompósitos de prata foi investigada por muitos pesquisadores [151-156] e seu potencial efetivo contra ampla gama de microrganismos foi comprovado, incluindo bactérias resistentes a antibióticos. Devido ao sucesso em seu uso, nanocompósitos de prata são também denominados como a nova geração de antimicrobianos, possuindo atividade antibacteriana [157, 158], antifúngica [159], antiinflamatória [160], antiviral [161], antiangiogênica [162] e anticancerígena [163, 164].

Tais propriedades indicam o impacto benéfico da nanop prata na saúde humana, entretanto, alguns estudos indicam que a atividade biológica das nanopartículas de prata pode ser prejudicial devido ao tamanho reduzido, tornando-as altamente dispersáveis tanto no corpo humano quanto no meio ambiente [165, 166].

Revestimentos contendo nanopartículas podem ser obtidos usando diferentes métodos biológicos, químicos e físicos, incluindo processos a plasma [152, 167]. Os quais podem sofrer diversas transformações entre o momento da síntese e o contato com receptores celulares ou ambientais, tais como adsorção, oxidação, dissolução ou agregação, influenciando sua biodisponibilidade, bioacumulação, transporte e toxicidade [151, 168].

A lenta dissolução oxidativa por oxigênio molecular e prótons [169-171], reações com espécies de enxofre reduzidas ou cloreto [172-176], adsorção de polímeros [177], matéria orgânica natural [177-179] ou proteínas [180, 181], pode levar ao aumento da atividade biológica com a presença de íons livres ou complexos solúveis [182, 183] ou a redução com a formação de sulfeto de prata [184] em relação à partícula inicial.

O uso generalizado de nanopartículas de prata (Ag-NPs) em produtos médicos e de consumo fornece forte motivação para uma avaliação cuidadosa de seus riscos ambientais e à saúde [168], sendo necessário considerar o equilíbrio entre os efeitos positivos desses produtos e os riscos potencialmente tóxicos [167]. Devido à ampla gama de aplicações da

nanoprata, diversas rotas de exposição são exploradas, incluindo ingestão, inalação, contato dérmico, aplicação na superfície da ferida e implantação de dispositivos médicos [168].

Sabe-se que a administração prolongada por ingestão oral ou inalação pode levar a uma série de problemas de saúde, desde a argiria, distúrbio permanente causado pela deposição de prata nos microvasos da pele, até o acúmulo de prata no fígado e no rim [153, 166]. Logo, a principal problemática do uso de Ag-NPs em biomateriais consiste na toxicidade não somente para as células dos microrganismos, mas também para as células humanas.

Apesar da toxicidade das nanopartículas de prata para as células de mamíferos ser consideravelmente menor em comparação com as concentrações eficazes antibacterianas [166], a caracterização físico-química do nanomaterial é essencial na avaliação do seu potencial citotóxico e na reprodutibilidade de dados [154]. Bem como a compreensão das alterações celulares induzidas a níveis não genômico, genômico e epigenético pode respaldar o uso seguro e a longo prazo de Ag-NPs em vários campos [185].

Embora a prata e seus derivados já estejam em uso clínico, evidências de sérios problemas de saúde e alta toxicidade são raras [153], contudo, a sua aplicação em dispositivos médicos deve ser realizada com cautela, uma vez que foi demonstrada que a toxicidade é dependente da concentração, tamanho da partícula e duração da exposição [185, 186]. A quantidade de nanomateriais adicionados aos dispositivos polímeros também pode ser relevante para o não comprometimento de suas propriedades físicas [186].

Burd et al. [187] estudaram a citotoxicidade de cinco curativos disponíveis comercialmente no mercado contendo nanopartículas de prata (Acticoat™, Aquacel® Ag, Espuma Contreet®, PolyMem® Silver e Urgotul®SSD) e descobriram que três dos curativos apresentavam efeitos citotóxicos em culturas de queratinócitos e fibroblastos.

Albers et al. [188] relataram que a concentração inibitória mínima antibacteriana para *Staphylococcus epidermidis* eram citotóxicas para células de osteoblastos e osteoclastos. Já Ahamed et al. [189] examinaram a resposta de Ag-NPs sem revestimento e revestidas com polissacarídeos em células-tronco e fibroblastos de camundongos, mostrando maiores danos ao DNA para as amostras revestidas devido a menor aglomeração das nanopartículas.

Fatores referentes à composição, tamanho, forma e concentração de nanopartículas de prata também influenciam na sua ação antimicrobiana [190]. A análise detalhada da literatura mostra interpretações conflitantes da eficácia dos nanocompostos de prata contra diversas cepas bacterianas, visto que a prata em diferentes formulações exibem atividade antimicrobiana variável [185].

Hetrick et al. [191] mostraram forte atividade antibacteriana de materiais que liberam prata na forma oxidada, agindo como reservatórios de prata capazes de liberar íons Ag^+ por longos períodos. No estudo de Yin et al. [192], foi constatado que a inibição do crescimento celular podem ser diretamente atribuídos às nanopartículas ou à capacidade de dissolução de Ag^+ a receptores bióticos críticos.

A atividade de Ag-NPs com tamanhos menores que 10 nm é devida principalmente à própria nanopartícula, enquanto que para aqueles maiores que 10 nm o mecanismo predominante ocorre através dos íons de prata. Desta forma, o intervalo preciso de tamanho em que Ag-NPs têm efeitos antimicrobianos ainda está para ser determinado [155]. Apesar disso, considera-se que nanopartículas com tamanhos entre 1-10 nm interagem preferencialmente com bactérias devido à alta penetração de partículas [193].

A suscetibilidade a agentes antibacterianos também é influenciada por diferenças entre as espécies bacterianas, as paredes celulares das espécies Gram-positivas contêm 3 a 20 vezes mais peptidoglicanos que as bactérias Gram-negativas. Uma vez que os peptidoglicanos são carregados negativamente, podem se ligar aos íons Ag^+ e conseqüentemente, as bactérias Gram-positivas são geralmente menos suscetíveis a agentes antibacterianos oxidados do que as espécies Gram-negativas [194].

Outro estudo estabeleceu a eficácia de 50 ppb de Ag^+ contra células planctônicas de *Staphylococcus epidermidis*, no entanto tal concentração se mostrou insuficiente para células sésseis [195]. Muitos agentes antimicrobianos eficazes contra células planctônicas se mostram ineficazes contra as mesmas bactérias que crescem em um biofilme [196, 197]. Além disso, as nanopratas, são frequentemente insolúveis em solução aquosa e tendem a aglomerar-se em certos meios, como o caldo nutriente [198].

A difusão de nanopartículas no biofilme exhibe uma relação inversa entre efetividade e tamanho, onde nanopartículas acima de 50 nm não são capazes de penetrar no biofilme devido aos coeficientes de autodifusão. Ademais, nanopartículas carregadas não se difundem facilmente através do biofilme, provavelmente devido à presença dos grupos fosfórico e carboxílico que confere à superfície celular um caráter eletronegativo [155].

Bjarnsholt et al. [199] estudaram a ação de sulfadiazina de prata em biofilmes maduros de *P. aeruginosa*, onde concentrações de 5-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ erradicaram o biofilme, e concentrações menores que 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ não apresentaram efeito. A concentração necessária para erradicação do biofilme foi de até 100 vezes maior em relação a bactérias planctônicas, como altas concentrações de Ag^+ livre são necessárias para um efeito bactericida contra biofilmes, é

crucial não sacrificar quaisquer aspectos de cito/biocompatibilidade do material para manter uma ação antimicrobiana eficaz [200].

A prata é também conhecida pela alta afinidade por macromoléculas biológicas, onde a presença de uma camada de condicionamento devido a implantação do material pode, portanto, inativar qualquer íon metálico liberado [201]. Conseqüentemente, a quantidade de íons disponíveis durante um período de tempo deve ser suficiente para exceder a perda relacionada a ligações proteicas.

Estudos de propriedades antimicrobianas de nanomateriais são frequentemente fundamentados em ensaios de difusão por serem relativamente econômicos, de fácil realização e comumente utilizados para avaliação de antibióticos, que são moléculas solúveis com impurezas mínimas [202]. A realização de ensaios de atividade antimicrobiana em meios à base de ágar dificulta a capacidade das nanopartículas de prata de liberar íons e, portanto, induzir efeito antimicrobiano [202]. E em comparação com os antibióticos, as propriedades dos nanomateriais são menos consistentes, com variações significativas entre lotes em termos de distribuição de tamanho de partícula, bioatividade, pureza e química de superfície [198, 203].

Numerosos estudos não levam em conta as propriedades físico-químicas dos nanomateriais, fator determinante para a reprodutibilidade, entendimento das propriedades antimicrobianas e padronização de ensaios para fins regulatórios [202]. E a análise estatística é constantemente limitada às zonas de inibição como evidência conclusiva do potencial antimicrobiano sem considerar impurezas, revestimentos, processos concorrentes ou outros mecanismos de interação [204-206].

Além disso, métodos químicos de síntese de nanopartículas que utilizam agentes redutores tóxicos, como nitrato, citrato, borohidreto ou outros compostos orgânicos, podem contribuir para a atividade antimicrobiana devido a produtos residuais não reagidos [152, 202]. Xiu et al. [207] relataram pela primeira vez não observar nenhum efeito antimicrobiano direto da nanoprata. Já Sheehy et al. [202] constataram que a nanoprata revestida e purificada apresenta atividade antimicrobiana mínima em comparação a prata iônica e nanopartículas não purificadas.

Apesar disso, ainda existem relatos emergentes que apresentam atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata sem considerar a presença potencial de diferentes espécimes ou impurezas, reafirmando a necessidade da caracterização físico-química do material antes de avaliar quaisquer propriedades antimicrobianas [203].

Embora o mecanismo antimicrobiano de íons de prata, nanopartículas e nanocompósitos à base de prata não tenha sido completamente elucidado, foi admitido o modo de ação multinível sobre diversas estruturas celulares e processos metabólicos como exemplificado na Figura 14 [153].

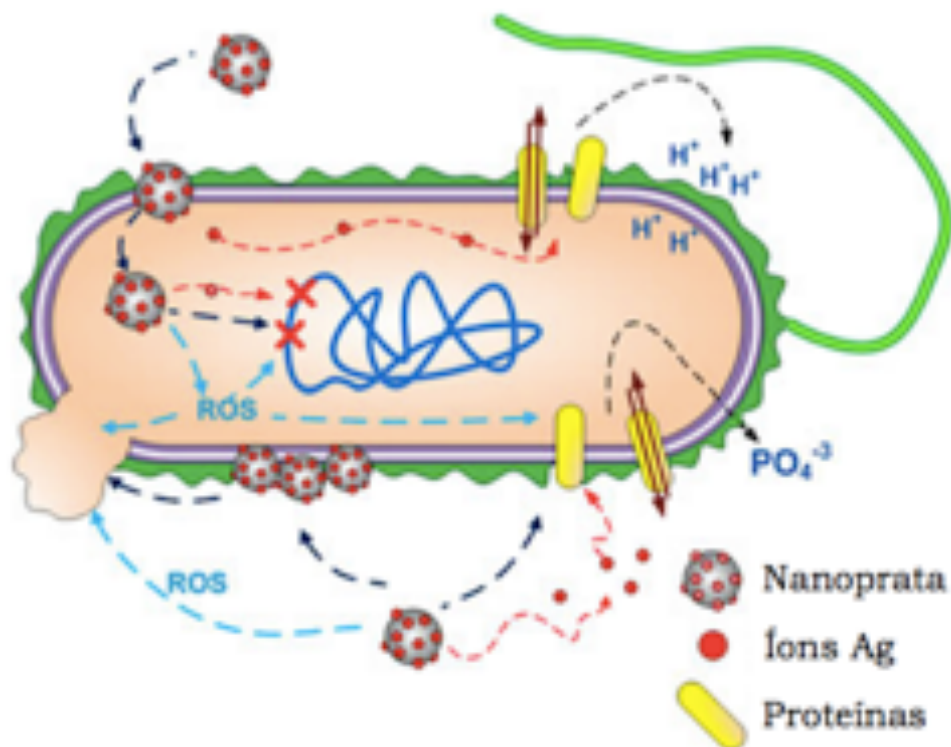


Figura 14. Mecanismos de interação da prata nanométrica em células procarióticas [156].

Foi proposto que a prata em diferentes formas atua combinando-se com enzimas vitais e proteínas localizadas na parede celular e no citoplasma afetando a respiração celular e o transporte de íons através da membrana, resultando no colapso do gradiente de prótons e do metabolismo celular [151, 154]. Para restaurar o gradiente de prótons, é desencadeado um processo respiratório descontrolado gerando radicais superóxido ou hidroxila. Onde o estresse oxidativo gerado pela formação de espécies reativas de oxigênio provoca danos significativos às estruturas celulares [154].

A ligação da prata à parede celular e membrana citoplasmática se dá por atração eletrostática e afinidade por proteínas com os grupos tiol, alterando sua funcionalidade e permeabilidade, atingindo o interior das células [152, 155]. Conjuntamente, a interação com grupos fosfatos presentes no DNA interferem na replicação do material genético, impedindo sua proliferação e finalmente resultando na apoptose celular [154].

A promessa de nanopartículas e nanocompostos de prata como novos antimicrobianos emergentes é, sem dúvida, uma perspectiva estimulante, com benefícios significativos e potencial comercial, levando ao surgimento de inúmeros produtos de consumo que reivindicam propriedades antimicrobianas derivadas da nano-prata [202].

2.6 Carbono tipo diamante (DLC)

O carbono tipo diamante, do inglês *diamond-like carbon* (DLC), é uma classe de materiais composta por formas metaestáveis de carbono amorfo com uma fração significativa de ligações do tipo sp^2 e sp^3 . Apresenta uma ampla gama de estruturas de ligação atômica e propriedades dependendo do método de preparação [208].

Desde o desenvolvimento dos revestimentos de DLC, sua elevada resistência ao desgaste e à corrosão conduziram pesquisas para a implementação no corpo humano. Diversos trabalhos indicaram um excelente desempenho de tribocorrosão com baixa toxicidade, proporcionando uma superfície propícia para o crescimento celular [209].

Os revestimentos de DLC também mostraram resultados promissores como material hemocompatível [210-213] e biocompatível [214-217], favorecendo o crescimento de fibroblastos, osteoblastos e macrófagos, sem inflamação e citotoxicidade. Essas investigações levaram a aplicação do biomaterial a ser uma alternativa promissora para os dispositivos médicos atuais [218], podendo ser encontrados em várias aplicações biomédicas, tais como *stents* arteriais, agulhas de cirurgia oftalmológica, lentes de contato, aplicações ortopédicas, odontológicas entre outras [219-223].

Uma variedade de métodos é utilizada na deposição de filmes finos de DLC, sendo CVD (*Chemical Vapor Deposition*) e PVD (*Physical Vapor Deposition*) as técnicas mais comuns [209]. Seu mecanismo de crescimento é amplamente compreendido em termos da subimplantação dos íons de carbono incidentes, em que um íon com baixa energia não consegue penetrar a superfície permanecendo no seu estado de energia mais baixo (sp^2), e para uma energia maior o íon tem uma probabilidade de penetrar intersticialmente aumentando a densidade local. Consequentemente, o bombardeamento iônico durante o crescimento do filme vai ditar as ligações atômicas presentes se ajustando às mudanças na densidade local, sendo mais sp^2 se a densidade for baixa e mais sp^3 se a densidade for alta [208]. Na Figura 15 estão ilustradas as estruturas dos materiais correspondentes às ligações entre os átomos de carbono.

Yang et al. [224] mostraram que o número de plaquetas ativadas pode ser controlado pela energia iônica correspondente aos parâmetros de deposição. Da mesma forma, Nagashima et al. [225] demonstraram que o tratamento com plasma de oxigênio, a superfície do DLC torna-se mais rugosa e hidrofílica diminuindo a adesão de plaquetas e, portanto a trombogenicidade. As ligações duplas do carbono, como as ligações sp^2 , também podem ser benéficas para a remoção de radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) gerados naturalmente no organismo quando neutrófilos e células imunes atacam agentes patogênicos causando danos aos tecidos, acidentes vasculares cerebrais e câncer [226].

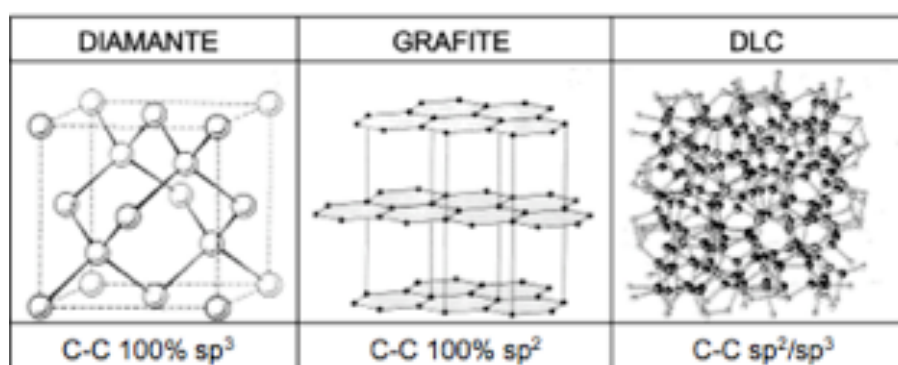


Figura 15. Ligações químicas dos materiais carbonosos e suas respectivas estruturas [227].

Para aplicações ortopédicas foi demonstrado a influência da rugosidade superficial onde superfícies mais ásperas promovem falhas preliminares do revestimento [209]. No entanto, uma questão séria sobre a utilização de filmes finos de DLC para aplicações biomédicas permanece, como a adesão *in vivo* a longo prazo. Os resultados negativos dos ensaios clínicos possivelmente são causados pela delaminação do revestimento ou pelas características inerentes do filme de DLC, contudo, o material deve ser cuidadosamente caracterizado, já que sem a determinação de suas propriedades físico-químicas a maior parte dos testes *in vitro* e *in vivo* dos biomateriais podem levar a resultados controversos [218, 228].

3 Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os equipamentos e materiais utilizados, bem como as metodologias de deposição de filmes finos efetuadas. Para alcançar os objetivos propostos, a metodologia de execução do trabalho é direcionada a três tópicos, detalhados a seguir. Na primeira parte são apresentados o sistema de deposição e seus componentes, a segunda parte trata dos substratos utilizados e na terceira parte é descrita a metodologia de deposição de filmes finos e os parâmetros de processo aplicados.

3.1 Sistema de deposição

A deposição de filmes finos foi realizada via pulverização catódica, do inglês *Physical Vapor Deposition* - PVD, utilizando o sistema de deposição *Magnetron Sputtering* instalado no Centro de Ciência e Tecnologia de Plasmas e Materiais (PlasMat) do Departamento de Física do Instituto Tecnológico de Aeronáutica. Na Figura 16 é mostrada uma visão geral do sistema de deposição e seus principais componentes.

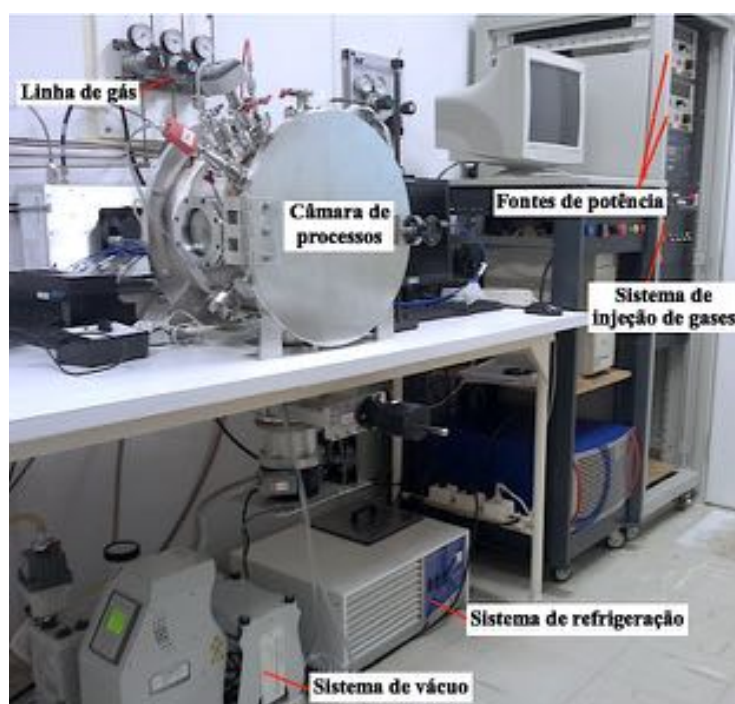


Figura 16. Sistema de deposição de filmes finos do PlasMat-ITA.

O sistema de injeção de gases é formado por quatro linhas de gases com alta pureza 99,99% (Ar, O₂, N₂ e CH₄), válvulas pneumáticas, medidor e controlador de fluxo de massa (MKS 1159B).

A câmara de processos é confeccionada em aço inoxidável no formato cilíndrico com 550 mm de diâmetro e 300 mm de comprimento. Possui dois catodos *magnetron* refrigerados a água, conjunto de imãs permanentes alojados internamente gerando um campo magnético máximo de 500 G - fabricante Edwards Vaccum. Cada catodo *magnetron* comporta dois alvos de 100 mm de diâmetro.

A amostra é colocada no porta-substrato, alocado em frente aos *magnetrons* de modo que se possa rotacionar a amostra. Na Figura 17 é mostrado o arranjo interno do reator.

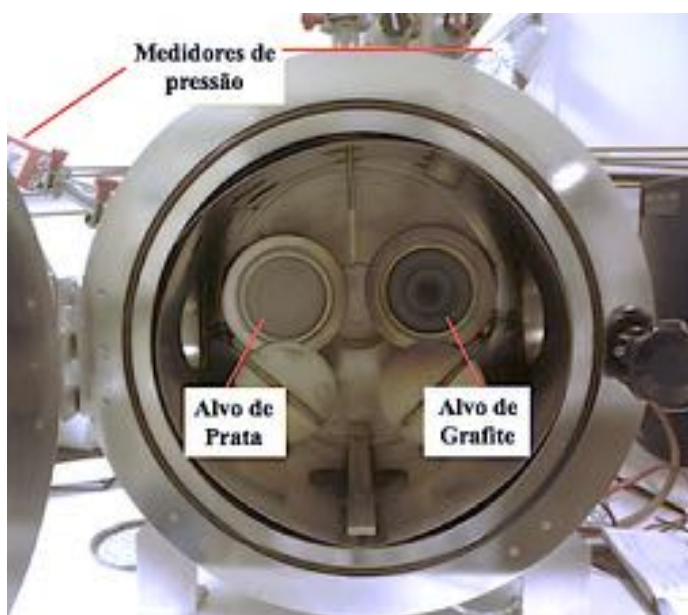


Figura 17. Câmara de deposição de filmes finos.

O sistema de vácuo é composto por uma bomba mecânica (Edwards modelo E2M-18) utilizada para pré-vácuo, e uma bomba turbo-molecular (Edwards modelo EXT351) conectadas em série. A pressão de trabalho na câmara de processos é controlada por uma válvula do tipo gaveta e monitorada por medidores de pressão do tipo Pirani (Edwards) para pré vácuo (até 10⁻³ Torr), e do tipo Catodo Frio (APGX – Edwards), para vácuo secundário (10⁻³ a 10⁻⁶ Torr). O sistema de acionamento das bombas e leitura da pressão é automatizado.

A conexão elétrica do reator, é feita através de cabos coaxiais BNC ligados a duas fontes de potência independentes DC *Advanced Energy* (MDX-1K) a qual permite aplicar

potências de até 1000 W e corrente de 1,0 A. O desenho esquemático do processo de deposição dos nanofilmes é mostrado na Figura 18.

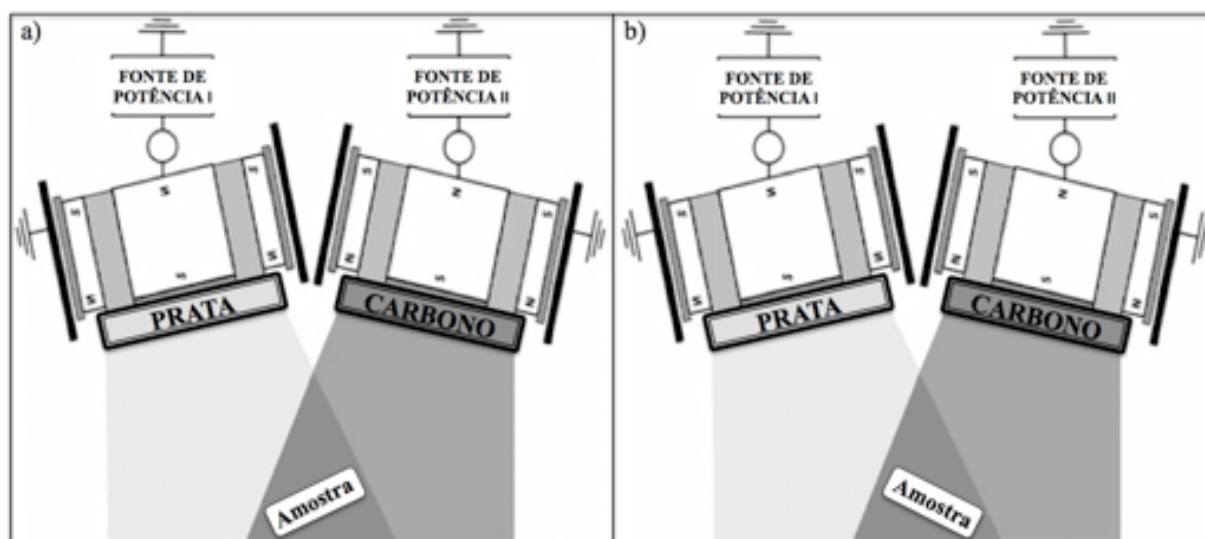


Figura 18. Desenho esquemático do processo de deposição para a) nanofilmes de prata e b) nanofilmes de DLC.

3.2 Substratos

Os filmes finos foram depositados em substratos poliméricos de interesse médico detalhados na Tabela 3, e em lâminas de silício para medida da espessura e estudo da taxa de deposição.

Tabela 3. Detalhamento dos substratos utilizados na deposição dos filmes finos.

Substrato	Espessura
Lâmina de silício	$0,525 \pm 0,025$ mm
Folha de Polipropileno	$1,0 \pm 0,1$ mm
Tela Protésica Intracorp®	$0,53 \pm 0,02$ mm
Tela Protésica baixa densidade	$0,41 \pm 0,02$ mm

3.3 Parâmetros de deposição

Os filmes de carbono tipo diamante (DLC) e prata foram depositados pela técnica de

magnetron sputtering seguindo duas metodologias distintas; nas quais foram utilizados os seguintes parâmetros de deposição:

- Pressão de fundo (P_f) = $(8,0 \pm 0,5) \times 10^{-5}$ Torr
- Pressão de trabalho (P_t) = $(3,0 \pm 0,3) \times 10^{-3}$ Torr
- Fluxo de argônio (Ar) = $(20,0 \pm 0,2)$ sccm
- Distância alvo substrato (d_{a-s}) = (120 ± 5) mm
- Temperatura (°C) = sem aquecimento externo

Para a potência aplicada ao alvo de grafite foram escolhidas potências maiores que as aplicadas ao alvo de prata para compensar o baixo rendimento de *sputtering* do carbono em relação a prata.

METODOLOGIA 1 - Deposição de filmes de DLC em lâminas de silício para estudo da taxa de deposição:

Amostra	Potência (W)	Tempo (min)
C100	100	5, 10, 20, 40, 60
C200	200	5, 10, 20, 40, 60
C300	300	5, 10, 20, 40, 60

Para a deposição de DLC nos substratos poliméricos de interesse médico foi escolhido o menor tempo de deposição estudado, visando reduzir ao máximo a quantidade de material utilizado e o tempo de processo.

METODOLOGIA 2 - Deposição de filmes finos de prata em lâminas de silício para estudo da taxa de deposição:

Amostra	Potência (W)	Tempo (min)
A3	3	1, 5, 10, 20
A5	5	1, 5, 10, 20
A7	7	1, 5, 10, 20

Para a deposição de prata nos substratos poliméricos de interesse médico foi utilizado o mesmo critério de escolha do DLC, levando em consideração também que as espessuras dos filmes finos fosse mantida no mesmo intervalo de até 20 nm para os parâmetros escolhidos.

3.4 Técnicas de Caracterização

Neste capítulo são apresentadas as técnicas de caracterização empregadas na análise dos filmes finos depositados, bem como os objetivos da análise e os detalhes dos equipamentos utilizados na Tabela 4.

Tabela 4. Detalhamento das técnicas de caracterização realizadas.

Técnica de Caracterização	Objetivo da análise	Detalhes do equipamento	Laboratório
Perfilometria mecânica	Espessura e taxa de deposição	KLA-Tencor P-7 stylus	PlasMat - ITA
Goniometria	Molhabilidade e energia de superfície	Ramé-Hart, 100-00	PlasMat - ITA
Microscopia de Força Atômica (AFM)	Morfologia e rugosidade	STM 9000 Shimadzu	PlasMat - ITA
Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	Morfologia	Tescan Mira3 LM FEG	LAS - INPE
Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	Análise do biofilme	HITACHI TM3000	IEAv
Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS)	Mapeamento elementar	JEM 2100F	LME - LNNano
Espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP OES)	Quantificação da prata	Spectro, modelo Arcos com visão radial (SOP)	IQ - USP
Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	Análise química	Spectrum One PerkinElmer	AQI - IAE
Espectroscopia por fotoelétrons excitados de raios X (XPS)	Análise química	Kratos Axis Ultra DLD	LAS-UFBA
Teste de riscamento - <i>Scratch test</i>	Propriedades adesivas e coesivas	NST – Nano Scratch Tester	Anton Paar Switzerland
Ensaio mecânico	Propriedades mecânicas	EMIC-DL-200 MF	ICT - UNESP

A espessura dos filmes finos depositados sobre lâminas de silício foi avaliada por perfilometria mecânica em função da potência aplicada ao alvo e do tempo de deposição. Foram feitas 5 medições ao longo da lâmina das amostras de filmes finos de DLC e prata. A perfilometria mecânica é utilizada para quantificar a variação de alturas a partir de uma ponta de alta sensibilidade que percorre a superfície do material medindo o perfil de superfície [229].

O estudo da molhabilidade e da energia de superfície das amostras foi realizado a partir do ângulo de contato utilizando o modelo de dois líquidos, sendo um polar (água deionizada) e outro apolar (diiodometano). Foram feitas cinco medições do ângulo de contato na superfície do polímero por amostra. A goniometria é uma técnica quantitativa em que por intermédio da medição do ângulo de contato (θ) pode ser estudada a interação entre uma superfície e um determinado líquido. O ângulo de contato é determinado pelo equilíbrio estático entre as tensões de interface líquido-sólido (γ_{LS}), sólido-vapor (γ_{SV}) e líquido-vapor (γ_{LV}), como mostrado na Figura 19.

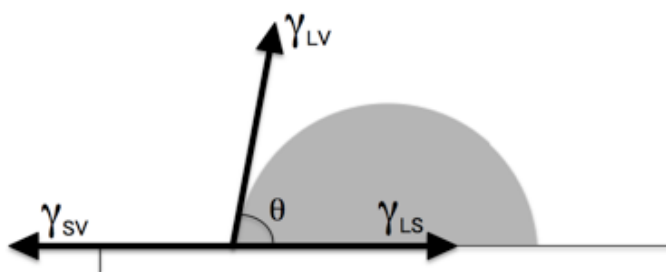


Figura 19. Definição do ângulo de contato entre uma gota e uma superfície plana e horizontal.

Esta relação de equilíbrio é conhecida como Equação de Young [230]:

$$\gamma_{SV} = \gamma_{LS} + \gamma_{LV} \cdot \cos\theta \quad (1)$$

A partir da medição do ângulo de contato de um líquido em uma superfície é possível avaliar a molhabilidade e a capacidade de espalhamento de um líquido sobre a superfície. A obtenção de um ângulo de contato inferior a 90° é indicativo de alta molhabilidade e bom trabalho de adesão termodinâmica, sendo considerado superfícies hidrofílicas. Por outro lado, quando θ é maior que 90° , o trabalho de adesão líquido-sólido é menor e a gota assume forma mais esférica, indicando uma superfície hidrofóbica.

Com base nas medidas do ângulo de contato, também é possível determinar a energia

da superfície de um sólido. Segundo a teoria de Fowkes [231] as forças intermoleculares que mais contribuem para energia livre de uma superfície são as componentes dispersivas (γ^d), que inclui forças de dispersão de London, (London–van der Waals), de orientação (Keesom–van der Waals), de indução (Debye–van der Waals) e de Lifshitz–van der Waals (LW); e os componentes polares (γ^p), que abrange ligações de hidrogênio e componentes ácido/base da superfície.

Um modelo de energia livre superficial amplamente empregado é o de Owens-Wendt, o qual divide a energia livre em forças polares e dispersivas (eq. 2) necessitando o uso de dois líquidos com tensões superficiais conhecidas para determinação das incógnitas γ_s^d e γ_s^p da equação 3 [232].

$$\gamma_s^T = \gamma_s^d + \gamma_s^p \quad (2)$$

$$\gamma_{LV} (1 + \cos\theta) = 2 (\gamma_s^d \gamma_{LV}^d)^{1/2} + 2 (\gamma_s^p \gamma_{LV}^p)^{1/2} \quad (3)$$

Para analisar o perfil da superfície e os parâmetros de rugosidade dos filmes depositados, foram realizadas análises por AFM das amostras. As análises foram feitas nas folhas de polipropileno utilizando o modo de contato intermitente, a partir de imagens 2D em áreas de (4x4) μm e (2x2) μm e do perfil 3D em área de (15x15) μm . O diferencial desta análise consiste na visualização tridimensional das amostras que fornece as variações do relevo da superfície. Para análise comparativa das medidas de rugosidade das amostras foram utilizadas a média aritmética das alturas máximas do perfil de rugosidade (Rz) e a rugosidade quadrática média (Rms).

A Microscopia de Força Atômica (*Atomic Force Microscopy* - AFM) é uma técnica capaz de fornecer uma imagem e propriedades relacionadas à superfície do material estudado. Durante a análise, cerâmicas piezoelétricas são acionadas para movimentação da amostra fazendo com que a ponta de prova percorra a superfície com precisão da ordem de Angstroms. Essa movimentação leva à uma variação nas forças reponsáveis pelas interações interatômicas entre a ponta e a superfície do material fazendo com que o “cantilever” sofra deformações, defletindo o feixe do laser incidente que é posteriormente computado para a confecção da imagem [233].

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) consiste na irradiação da amostra com elétrons causando a emissão de elétrons retroespalhados, elétrons secundários e de raios X. A

formação da imagem se dá pelos detectores de elétrons secundários e retroespalhados, e os detectores de raios X, microsondas de EDS (*Energy dispersive X-ray detector*), são usados mais especificamente para análise da composição química de microregiões da amostra. A técnica de microscopia eletrônica é uma das principais ferramentas disponíveis para o estudo da morfologia e estruturas superficiais de materiais [234].

A quantificação da concentração de prata no filme foi feita por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP OES). A ionização da prata foi feita por plasma de argônio no líquido atomizado, após a digestão da amostra em ácido nítrico (HNO₃). Para realizar a quantificação foi utilizada a curva de calibração mais baixa do equipamento na linha de emissão da prata (328.068 nm). A Espectrometria de emissão óptica com plasma (*Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry - ICP OES*) é uma técnica analítica utilizada para quantificação de elementos a partir da detecção da radiação eletromagnética emitida por átomos neutros ou íons excitados nas regiões do espectro eletromagnético visível e ultravioleta. A ionização dos elementos a serem analisados é feita por plasma de argônio, que pode ter temperatura de 7000-10000 K, tendo energia suficiente para promover a excitação da maioria dos elementos químicos existentes, possibilitando a quantificação de uma ampla faixa de analitos [235].

A estrutura dos filmes finos foi avaliada por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) no modo de reflexão. Os espectros FT-IR das telas de polipropileno foram adquiridos pela técnica Universal Attenuated Total Reflectance – UATR, utilizada para análise superficial. A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (*Fourier-transform infrared spectroscopy – FT-IR*) é uma técnica analítica utilizada para identificar materiais orgânicos e em alguns casos inorgânicos.

O espectrômetro utiliza um interferômetro para modular o comprimento de onda a partir de uma fonte de radiação IR, e um detector mede a intensidade da luz transmitida ou refletida em função do seu comprimento de onda. O comprimento de onda da luz absorvida por uma molécula particular é uma função da diferença de energia entre os estados vibracionais em repouso e excitado. Os comprimentos de onda que são absorvidos pela amostra são característicos da sua estrutura molecular [236].

Para uma aferição da química da superfície das telas cirúrgicas foram realizadas análises de XPS das amostras utilizando fonte monocromática de Al K α (1486,6 eV) a uma potência de 150 W, onde os espectros de alta resolução registrados em energias de 40 eV nas regiões do C 1s, O 1s, e Ag 3d. O tratamento de dados foi feito no programa CasaXPS para análise dos picos fotoeletrônicos e dos espectros das bandas de valência.

A espectroscopia por fotoelétrons excitados de raios X (*X-ray photoelectron spectroscopy* - XPS) é uma técnica de caracterização utilizada na quantificação de elementos químicos e suas concentrações relativas na superfície da amostra. Um feixe de raios X incide no material ejetando elétrons que são coletados por um analisador capaz de determinar a quantidade e respectivas energias cinéticas num dado intervalo de tempo desses elétrons. Através de um mecanismo de coleta automatizado, curvas de contagem vs energia denominadas de espectros de XPS são obtidas [237].

Para avaliar a resistência dos filmes finos ao riscamento e sua adesão sobre o substrato, foi realizado o teste de riscamento (*scratch test*) na folha de polipropileno pela empresa Anton Paar em sua sede na Suíça. As medições foram realizadas usando o Nano Scratch Tester (NST), que é um equipamento especialmente adequado para testar propriedades mecânicas de revestimentos duros em substratos macios. A análise foi realizada na amostra mais espessa, que consiste no filme de DLC sintetizado com 300 W de potência aplicada no alvo de grafite.

O método do teste de riscamento consiste na geração de arranhões desenhados a uma velocidade constante com uma ponta esfero-cônica (geralmente de diamante Rockwell C), sob carga constante ou progressiva a uma taxa fixa. As forças motrizes que causam danos no revestimento são uma combinação das tensões de indentação elástico-plásticas, tensões de fricção e tensões internas residuais [238]. O procedimento de pré-varredura permite medir a profundidade de penetração real durante o riscamento e na pós-varredura caracterizar a recuperação elástica do material [234]. Na Figura 20 são mostrados resultados típicos do teste de riscamento, em que cada região das curvas do gráfico gerado representa uma etapa da falha da adesão de uma película ao substrato.

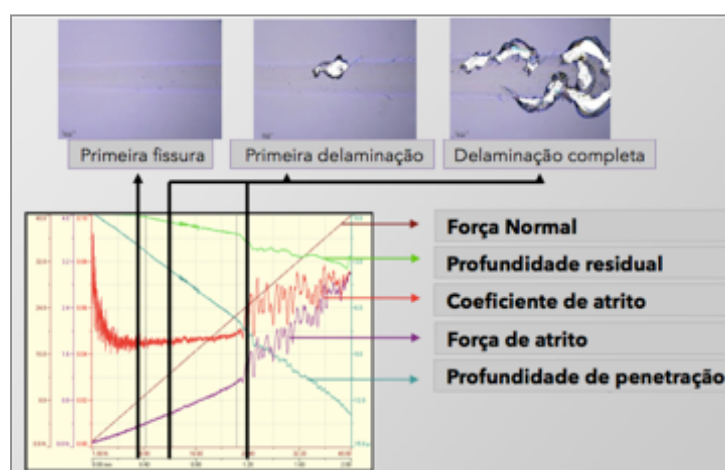


Figura 20. Resultados típicos de testes de riscamento. Adaptado de [238].

Para a avaliação das propriedades mecânicas das telas de alta e baixa densidade tratadas com nanofilmes de DLC e prata foram realizados ensaios de microtração uniaxial utilizando a máquina de ensaios universal EMIC. Os parâmetros de ensaio consistem em célula de carga de 10 kg, velocidade 2 mm/min e L_0 de 60 mm para seis telas de cada conjunto de amostras cortadas em tiras de 100 x 20 mm. A análise estatística das propriedades mecânicas resultantes foi feita com o *software* livre Past.

O ensaio de tração consiste na aplicação gradativa de carga nas extremidades de um corpo de prova especificado, e fornece uma visão geral das propriedades mecânicas de um material a partir da medição de sua resposta a uma tensão uniaxial. Onde uma tira de comprimento L_0 e área da seção transversal A_0 é ancorada em uma extremidade e submetida a uma carga de tração no eixo da amostra [239, 240].

O resultado de um ensaio de tração é registrado na forma de um gráfico da carga em função do deslocamento. Como essas características são dependentes do tamanho da amostra (quanto maior a área da seção transversal do corpo de prova maior a carga para produzir o mesmo alongamento), utiliza-se a normalização dos parâmetros convertidos em tensão vs deformação para minimizar os fatores geométricos e avaliar as propriedades mecânicas independente da dimensão da amostra.

A tensão de tração, força por unidade de área que atua no plano transversal à carga aplicada, é uma medida fundamental das forças internas do material. A tensão nominal é definida como:

$$\sigma = F/A_0 \quad (4)$$

onde F é a carga aplicada e A_0 é a área de seção transversal inicial da amostra.

A deformação é definida como

$$\varepsilon = \Delta L/L_0 \quad (5)$$

onde L_0 é o comprimento inicial da amostra e ΔL é a variação no comprimento ($L-L_0$).

O material inicialmente alonga-se proporcionalmente à carga, denominado comportamento elástico linear, onde a deformação é recuperável. A inclinação da curva dentro do regime elástico linear é o módulo de elasticidade (E) ou o módulo de Young do material:

$$E = \sigma/\varepsilon \quad (6)$$

Quanto maior o valor de E , maior é a carga necessária para esticar a amostra na mesma extensão e mais rígido é o material. À medida que a tensão aumenta, o material se desvia dessa proporcionalidade linear, sendo o ponto de partida denominado limite de escoamento (σ_e). O limite de escoamento é o valor da tensão aplicada que acarreta na deformação permanente do material em que a estrutura molecular não volta à sua posição original. Esta não linearidade é geralmente associada rearranjo de sua estrutura molecular, onde os átomos estão sendo movidos para novas posições de equilíbrio [241, 242].

A extensão da deformação plástica que o material sofre antes da falha, conhecida como ductilidade, é dada pelo percentual de alongamento total da amostra, em que L_0 é o comprimento inicial e L_f é o comprimento final:

$$\% \text{ El} = [(L_f - L_0)/L_0] \times 100 \quad (7)$$

A ductilidade representa uma medida do grau de deformação plástica que o material suporta até a fratura e pode ser expressa quantitativamente pelo alongamento percentual (% El). A resistência à tração (resistência máxima) é definida como o valor mais alto da tensão (σ_{UTS} – *ultimate tensile strength*).

O módulo de resiliência (U_r) representa a energia de deformação por unidade de volume exigida para tensionar um material elasticamente e corresponde a área abaixo da curva dentro do regime elástico. O módulo de tenacidade (U_t) representa uma medida da capacidade de um material em absorver energia até a fratura e corresponde a área total abaixo da curva de tensão vs deformação.

A Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM International) e a Organização Internacional de Padronização (ISO) ainda não desenvolveram até o presente momento padrões específicos para certificar o desempenho e a confiabilidade das telas cirúrgicas sintéticas [30]. Muitos estudos adotam os padrões existentes da indústria têxtil para assumir uma terminologia uniforme e realizar os ensaios de maneira padronizada [32, 243]. Na descrição destas normas consta a sua não aplicabilidade para materiais na forma de malha, sendo assim, para o presente estudo foi utilizada a norma ASTM D3039 como base para realização e padronização do ensaio mecânico.

Neste estudo foi elaborado um protocolo para análise das telas de polipropileno de alta e baixa densidade tratadas com nanofilmes de DLC e prata utilizando amostras de tamanho maior para haver melhor fixação nos ganchos do equipamento, menor velocidade de ensaio para a tensão de tração ser transmitida uniformemente à geometria complexa em forma de malha, e na análise e comparação dos resultados foi feita a normalização dos parâmetros gerando os gráficos de tensão vs deformação.

3.5 Ensaio biológicos

Com o propósito de avaliar a interação das telas de polipropileno de uso cirúrgico com superfície tratada pela deposição de filmes finos a plasma em relação a células e meios biológicos, foram realizados ensaios *in vitro* de citotoxicidade e de aderência microbiana. As amostras foram armazenadas em um envelope plástico hermeticamente lacrado após a deposição dos filmes, e posteriormente esterilizadas por radiação gama com dose de 20 kGy.

Para a avaliação da citotoxicidade *in vitro* das amostras de tela polimérica recobertas com nanofilmes de DLC e prata utilizaram-se células de linhagem Vero (fibroblasto-like de rins do macaco-verde) cultivadas a 37 °C e atmosfera de 95 % de ar e 5 % de CO₂ em meio de cultura de células Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 5 % de soro fetal de bovino inativado.

Suspensões celulares de 6×10^5 células/poço foram semeadas em placa de 96 poços contendo as amostras de tela e somente o meio de cultura celular como controle, seguindo-se da incubação por 24 horas. Em seguida, o meio de cultura foi removido e 100 µL de 0,5 mg/mL de MTT (brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólico) adicionado para posterior incubação da placa por mais 4 horas. Após este período, a nova suspensão foi removida e adicionado DMSO (dimetilsulfóxido) para dissolução dos cristais de formazan. Os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata com valores de absorbância medidos a 570 nm no espectrofotômetro Biotek SynergyTM HT, Winooski, VT.

O ensaio MTT é uma medida da função metabólica celular, dependente da atividade intacta de uma enzima mitocondrial, succinato desidrogenase, que é reduzida após a exposição das células a um ambiente tóxico. Em resumo, o teste envolve a conversão do sal de tetrazólio (MTT) a um produto insolúvel (formazan), que pode ser quantificado por espectrofotometria [244].

Com o intuito de verificar o potencial antibiofilme das telas sintéticas revestidas com nanofilmes de DLC e prata foram realizados ensaios *in vitro* de formação de biofilmes bacterianos de *Escherichia coli* ATCC 23922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6539, e biofilmes fúngicos de *Candida albicans* ATCC 18804.

A suspensão padronizada contendo 10^7 células/mL foi preparada em solução fisiológica esterilizada (NaCl 0,9%) utilizando um espectrofotômetro, e posteriormente diluída 1:10 em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) para preparação do inóculo contendo 10^6 células/mL. Aliquotas de 20 μ L de inóculo e 180 μ L de caldo BHI foram transferidas para uma placa de 96 poços contendo amostras de tela esterilizadas.

As placas foram incubadas a 37 ° C sob aerobiose e agitação de 90 rpm durante 120 min para fase de pré-aderência das células. Na sequência as amostras foram lavadas com 1 mL de PBS (*Phosphate-buffered saline*), transferidas para novos poços com 200 μ L de caldo BHI e incubadas durante 24 h a 37 °C em aerobiose. Após as 24 h de incubação, o procedimento anterior foi repetido para obtenção de biofilmes de 48 h.

As amostras foram novamente lavadas e transferidas para microtubos, e para a dispersão do biofilme os tubos foram agitados por 60 s em vórtex e depois sonicados no gelo com 3 pulsos de 15 W e amplitude 40 e intervalo de 10 s. As suspensões resultantes foram diluídas em série até 10^{-4} em solução fisiológica esterilizada, e inoculadas em ágar BHI. As placas foram incubadas durante 24 h a 37 °C em aerobiose para obtenção dos valores de unidades formadoras de colônias por espécime (UFC/espécime).

Os experimentos foram realizados em dois dias diferentes com n=5 (N=10), e os valores de CFU/espécime foram comparados entre os grupos de amostras, e a atividade microbiana na superfície das amostras foi avaliada a partir de imagens MEV.

4 Resultados e Discussões

Neste capítulo são apresentados os resultados das caracterizações realizadas nas amostras recobertas com filmes finos depositados pela técnica de *magnetron sputtering* para aplicações biomédicas. A caracterização físico-química das amostras possibilita correlacionar os parâmetros de processo e as propriedades dos filmes finos obtidos, e com isso pode-se confeccionar um material com as características desejadas.

Para aplicações biomédicas além das propriedades físicas e químicas do material também é necessário averiguar a sua interação com sistemas biológicos. A análise da interação do material com células eucarióticas foi feita por meio de testes de citotoxicidade, e para o estudo da aderência microbiana na superfície dos implantes foram realizados testes *in vitro* de crescimento de biofilme bacteriano e fúngico. A investigação do comportamento celular *in vitro* sobre a superfície de diferentes biomateriais é uma etapa fundamental no seguimento para testes em animais e finalmente o uso clínico.

4.1 Caracterização físico-química

As caracterizações físicas dos filmes finos foram focadas principalmente em análises de superfície como Perfilometria, Goniometria, Teste de riscamento (*scratch test*), Microscopia Eletrônica de Varredura e Microscopia de Força Atômica. Para análise química foi feita a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP OES), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia de Fotoelétrons excitados por raios X (XPS) e mapeamento por Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS). Para a avaliação das propriedades mecânicas das telas poliméricas de uso cirúrgico e da influência do processo de deposição a plasma nas fibras poliméricas foram realizados ensaios de tração.

4.1.1 Perfilometria

No estudo dos filmes finos de carbono amorfo tipo diamante foram aplicadas três potências distintas ao alvo de grafite – 100, 200 e 300 W – nos seguintes tempos de deposição de 5, 10, 20, 40 e 60 min. A Figura 21 mostra as espessuras dos filmes finos avaliadas em

função do tempo de deposição em três valores distintos de potência de descarga a uma pressão de operação fixa de 3×10^{-3} Torr.

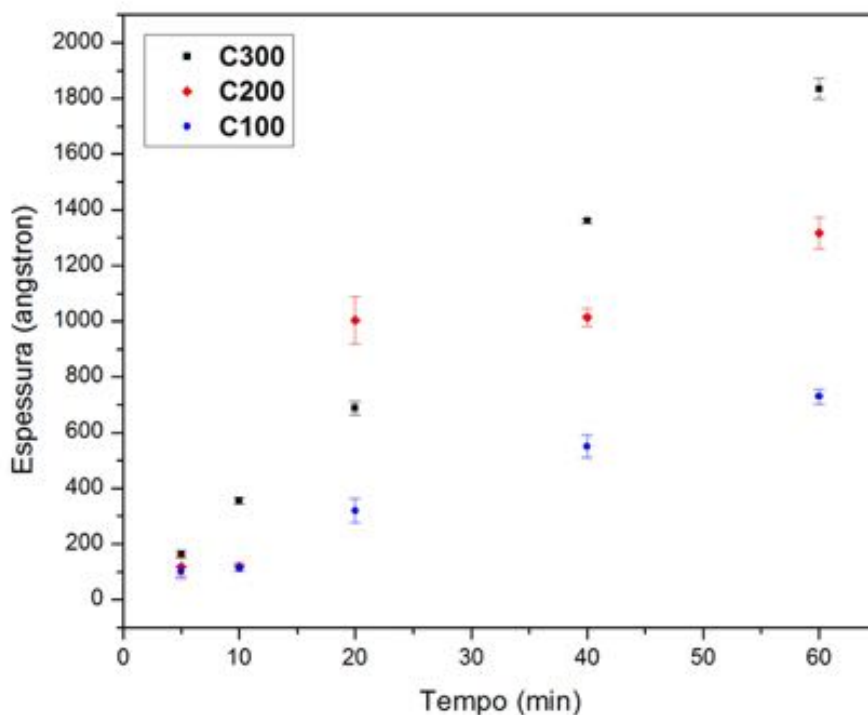


Figura 21. Variação da espessura dos filmes finos de DLC em função do tempo de deposição.

Observa-se que houve um aumento linear na espessura dos filmes finos com o aumento do tempo de deposição, exceto para o ponto referente a 20 min e potência de 200 W, o qual pode ser desconsiderado. Para curtos tempos de deposição a espessura dos filmes não sofre grande variação, ficando entre 150 e 180 Å.

O crescimento dos filmes está relacionado ao número de partículas pulverizadas do alvo que chegam ao substrato, que aumenta não somente com o tempo de deposição mas também com o aumento da potência aplicada e com a densidade de plasma.

Para o estudo dos filmes finos de prata foram aplicadas potências de descarga de 3, 5 e 7 W, com tempo de deposição variando em 1, 5, 10 e 20 min. A Figura 22 mostra a variação de espessura dos filmes de prata obtidos em função do tempo de deposição.

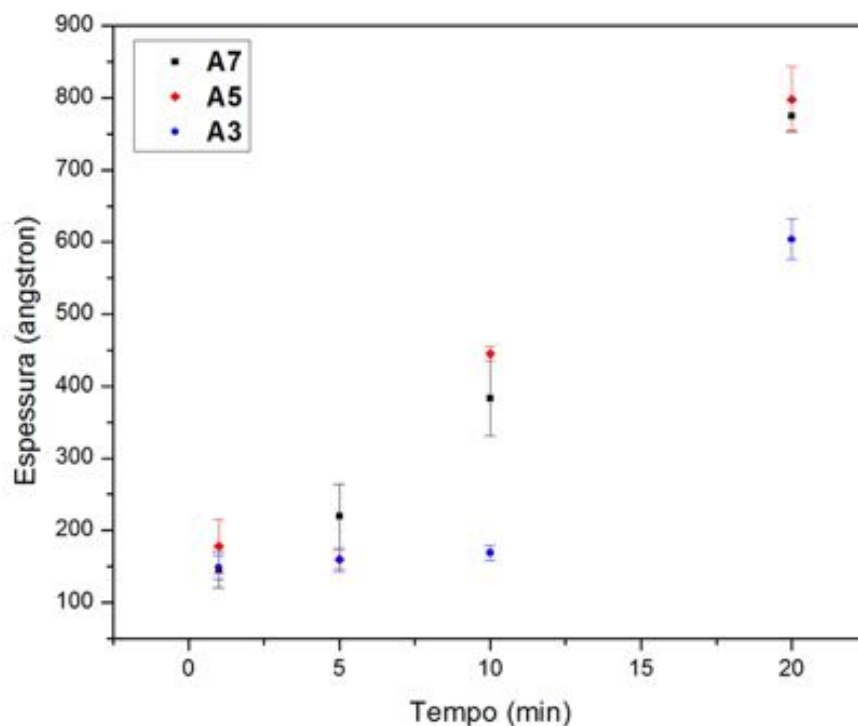


Figura 22. Variação da espessura dos filmes finos de prata em função do tempo de deposição.

Os resultados mostram um aumento aproximadamente linear na espessura dos filmes finos depositados com potências maiores, 5 e 7 W. Já para a menor potência aplicada, 3 W, não houve linearidade, sendo que para tempos de deposição pequenos a espessura dos filmes não apresenta grande variação, ficando entre 150 e 180 Å. A deposição de filmes de prata com menor potência aplicada ao alvo e espessura equivalente aos filmes de DLC está relacionada com o rendimento de *sputtering*, em que é necessário menor quantidade de íons de argônio bombardeando a superfície do alvo para desalojar grande quantidade de átomos [144] como mostrado também na Figura 13.

4.1.2 Teste de riscamento

Os parâmetros de teste obtidos para avaliar a resistência dos filmes finos ao riscamento e sua adesão sobre o substrato são apresentados na Figura 23 e 25. Nenhum ponto de inflexão, indicativo de falha, pôde ser observado nas curvas do teste de riscamento realizado com a ponta de diamante de 1 µm.

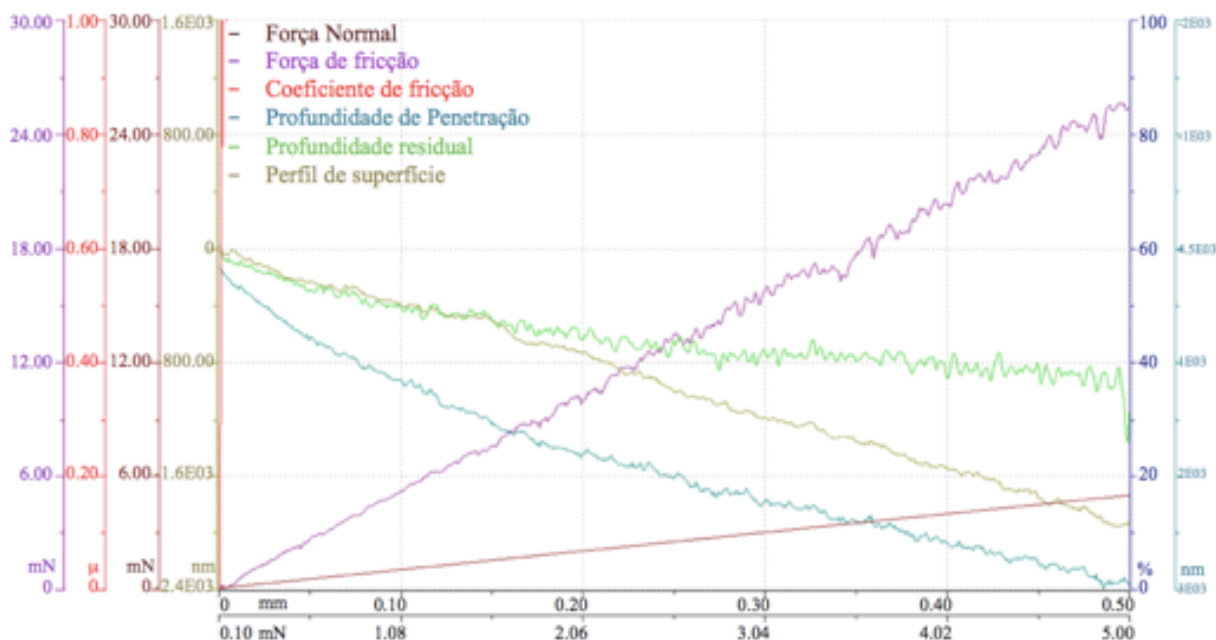


Figura 23. Teste de rascamento com ponta de 1 μm e carga progressiva de 0,1 mN a 5 mN.

A pressão hertziana aplicada na amostra é muito alta, e como consequência o substrato de polipropileno é deformado significativamente desde o início do teste de rascamento. Logo, não são observadas as cargas críticas e sim a deformação plástica do substrato, como evidenciado na Figura 24 do panorama do teste de rascamento.



Figura 24. Panorama do teste de rascamento com ponta de 1 μm .

A fim de diminuir a pressão hertziana, o teste foi realizado com uma ponta de diamante maior (5 μm), indicado na Figura 25, buscando a redução da deformação plástica do substrato. Novamente as medições realizadas não permitiram definir cargas críticas para o filme de carbono depositado na folha de polipropileno com os parâmetros de ensaio utilizados.

O revestimento de carbono é muito fino e o substrato de polipropileno é demasiadamente macio, e sob uma carga aplicada a ponta penetra no material e deforma plasticamente o substrato enquanto se desloca. Consequentemente não foi possível determinar nenhum critério de falha relevante utilizando o Nano Scratch Tester, já que a espessura do revestimento e a dureza do substrato são pontos críticos para as medições.

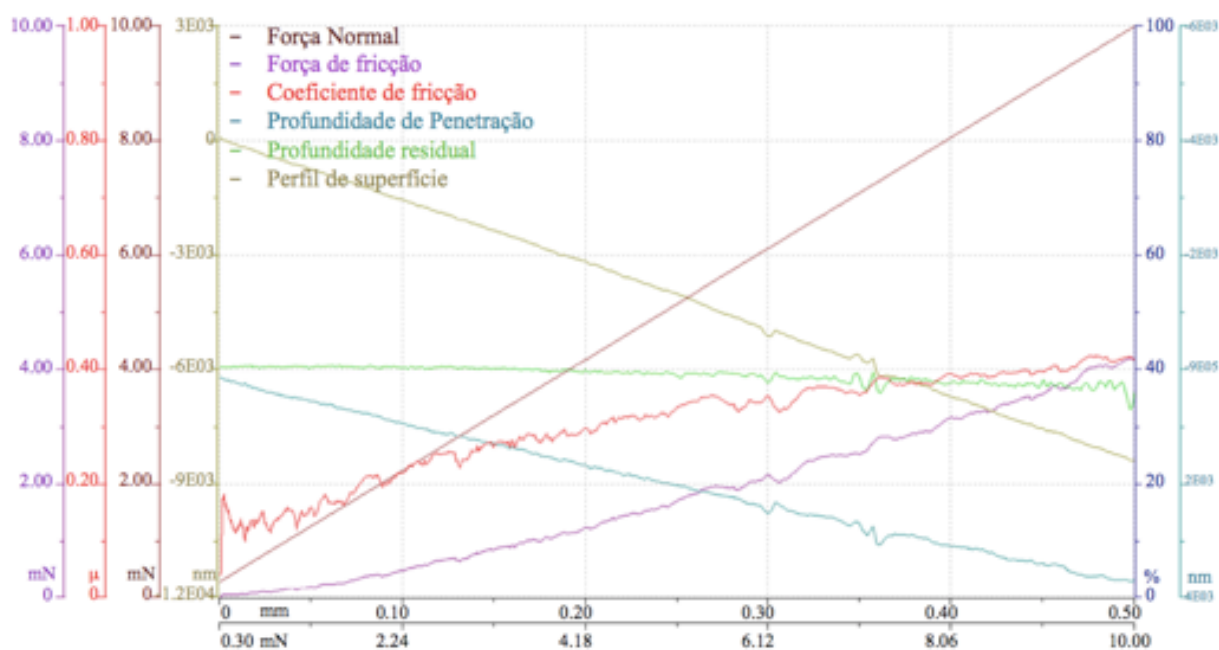


Figura 25. Teste de riscamento com ponta de 5 μm e carga progressiva de 0,3 mN a 10mN.

Na Figura 26 é apresentado o panorama do teste de riscamento realizado com uma ponta de 5 μm . Apesar de não ter sido possível a definição de cargas críticas, os resultados obtidos do teste de riscamento não apresentaram delaminação completa ou parcial na interface indicando boa adesão do nanofilme ao substrato.

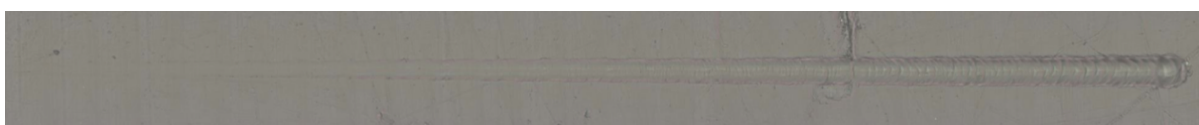


Figura 26. Panorama do teste de riscamento com ponta de 5 μm .

4.1.3 Goniometria

Para aplicações biomédicas do polipropileno o estudo da superfície é extremamente necessário, já que essas propriedades regem as interações imediatas com as células, macromoléculas e fluídos biológicos. Os valores dos ângulos de contato encontrados para o líquido polar (água deionizada) e apolar (diiodometano) são mostrados na Figura 27.

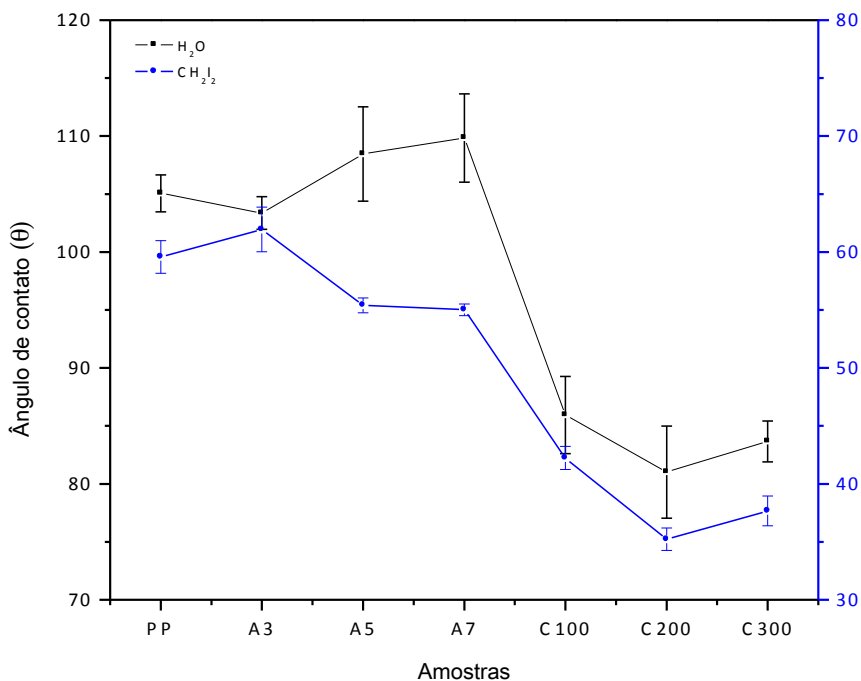


Figura 27. Variação no ângulo de contato das amostras para água DI (em preto) e diiodometano (em azul).

Nota-se que o polipropileno apresenta ângulos de contato maiores que 100° , e portanto com característica hidrofóbica. A deposição de nanofilmes de prata na superfície do polímero apresentou um aumento nos ângulos de contato para a água com o aumento da espessura do filme, porém não houve diferença estatística em relação ao polímero puro. Já para as amostras revestidas com nanofilmes de DLC houve uma diminuição dos ângulos de contato para aproximadamente 85° , revelando um caráter hidrofílico da superfície com diferença estatística entre o polímero sem tratamento e os tratados com nanofilmes de prata (p valor $< 0,0002$). Na Figura 28 observa-se a variação no formato das gotas de água DI e de diiodometano para os diferentes nanofilmes em relação ao polipropileno puro.

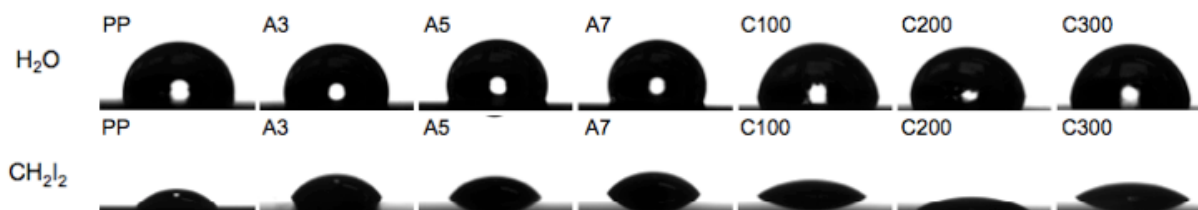


Figura 28. Ângulo de contato dos líquidos polar e apolar para as amostras poliméricas com e sem nanofilmes de DLC e prata.

A mudança na molhabilidade dos líquidos analisados indicam diferenças na polaridade e/ou rugosidade das superfícies, e utilizando os valores dos ângulos de contato encontrados é possível resolver o sistema de equações do modelo de Owens-Wendt (Equação 2 e 3 da seção 3.4) para determinação da energia livre de superfície γ_s^T , apresentadas na Figura 29.

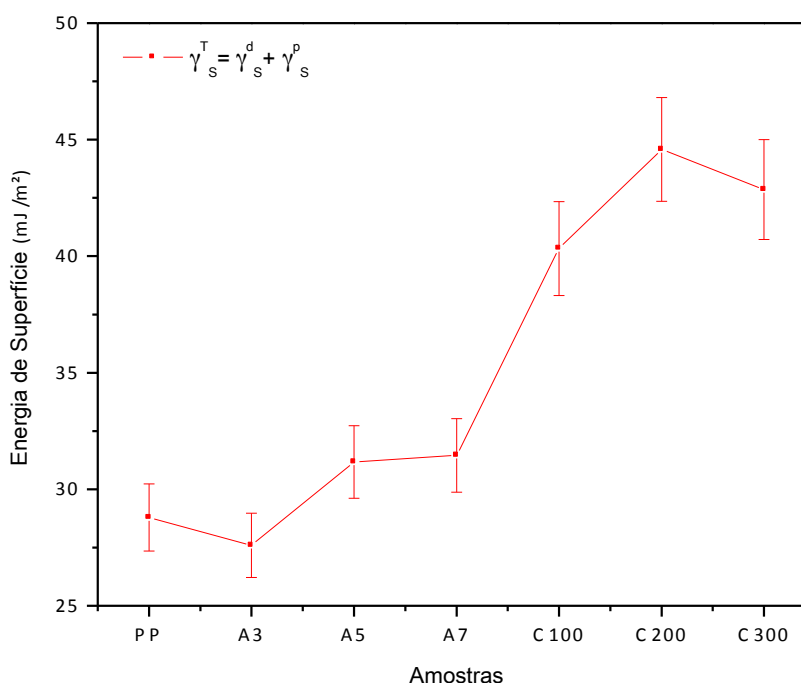


Figura 29. Energia de superfície para o polipropileno e os nanofilmes de prata e DLC.

A energia livre da superfície é um parâmetro relacionado a colonização microbiana, onde um alto ângulo de contato (baixa energia superficial) favorece as propriedades antibacterianas e um baixo ângulo de contato (alta energia superficial) favorece a adesão e colonização da superfície [245].

O substrato polimérico sem tratamento apresentou elevado ângulo de contato e energia de superfície média de 28 mJ/m^2 , o que já era esperado, devido à sua estabilidade química e ausência de ligações livres na superfície. A amostra A3 apresentou energia superficial equivalente ao polipropileno, devido à presença de pouco material, formando um filme irregular. Com o aumento da potência de deposição e conseqüentemente da espessura do filme gerando revestimentos uniformes, a energia de superfície aumenta.

Os implantes poliméricos comerciais são em grande maioria hidrofóbicos e caracterizados por interações fracas com células, sangue e tecidos. Após implantados a superfície do polímero é recoberta com uma camada de proteínas plasmáticas adsorvidas

(predominantemente albumina e fibrinogênio), que tendem a assumir uma conformação alterada e a expor os domínios hidrofóbicos tornando-se perfeitamente aderentes às superfícies hidrofóbicas [246-248]. As mudanças conformacionais das proteínas adsorvidas estão relacionadas a reações adversas, como inflamação, coagulação e reação de corpo estranho [249, 250].

A obtenção de baixas energias de superfície e elevados ângulos de contato ($>100^\circ$) para filmes finos de prata depositados por *magnetron sputtering* também foi relatada na literatura [251]. Para o DLC, além de uma maior hidroflicidade houve um aumento da energia superficial com maior valor de 45 mJ/m^2 para a amostra C200. Esses resultados sugerem que pode haver uma maior biointegração do implante, já que superfícies com caráter hidrofílico e alta energia superficial facilitam a adesão, crescimento e diferenciação celular, o que auxilia na cicatrização de feridas e no crescimento de tecidos [146, 252].

4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

A morfologia e topografia das amostras também foram avaliadas por MEV-FEG de modo a caracterizar as microestruturas e correlacionar os mecanismos de formação dos filmes finos nas fibras poliméricas. A Figura 30 mostra a imagem da fibra da tela de polipropileno sem revestimento com aumento de 10.000 vezes. Pode-se notar a presença de muitas ranhuras na superfície advindas do processo de extrusão e fabricação da tela.

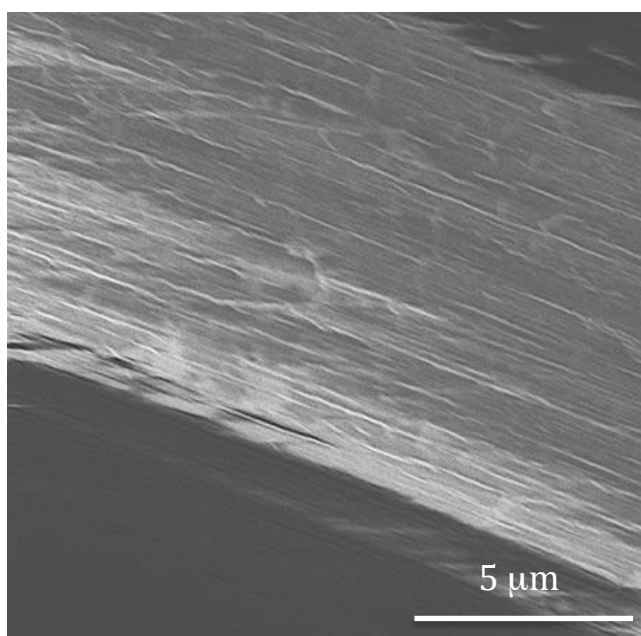


Figura 30. FEG 10.000x da tela de polipropileno sem revestimento.

A comparação das imagens com aumento de 10.000 vezes das telas de polipropileno revestidas com nanofilmes de DLC (Figura 31) e nanofilmes de prata (Figura 32), evidenciam considerável redução das ranhuras com o material depositado.

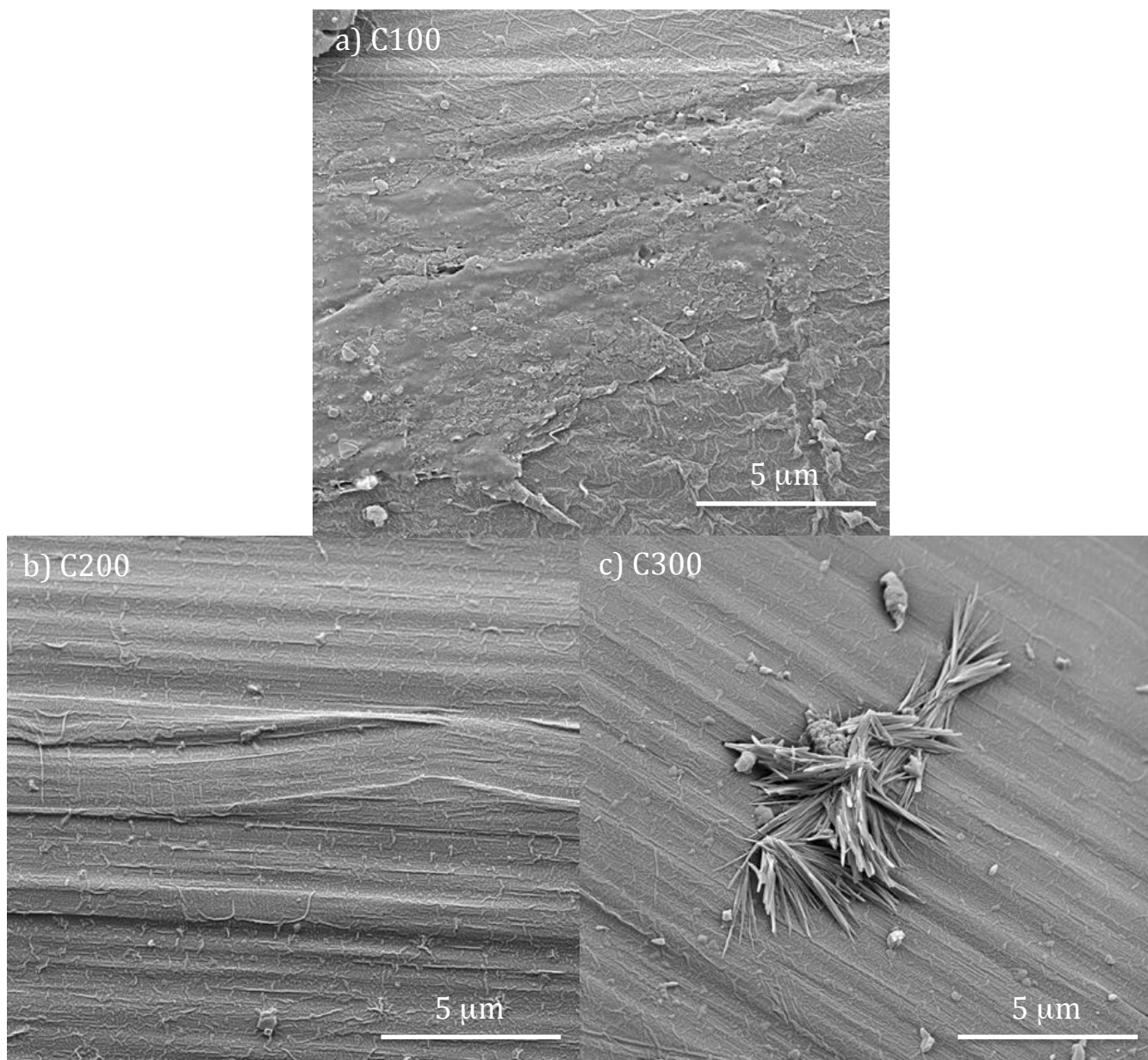


Figura 31. FEG 10.000x dos nanofilmes de DLC a) C100 b) C200 e c) C300.

A formação do filme ocorre pela condensação dos átomos pulverizados na superfície das fibras, em que para a amostra depositada com a menor potência estudada, 100 W, os átomos chegam ao substrato com menor energia. Procedendo numa menor mobilidade dos átomos na superfície do polímero gerando um filme mais granular, como apresentado na

Figura 31 a). Com o aumento da potência aplicada no alvo de grafite, átomos mais energéticos e em maior quantidade chegam ao substrato polimérico coalescendo e formando um filme uniforme e mais compacto, Figura 31 b).

Já para os filmes depositados com 300 W de potência, as partículas pulverizadas além de chegarem com maior energia elevam a temperatura do substrato, apresentando filmes com menos defeitos. O aumento da energia e mobilidade superficial dos átomos de carbono pode promover também o surgimento de aglomerados de estruturas aciculares, Figura 31 c).

As imagens com aumento de 10.000 vezes dos filmes finos de prata depositados nas telas de polipropileno são mostradas na Figura 32 para a) deposição com 3 W de potência b) 5 W e c) 7 W.

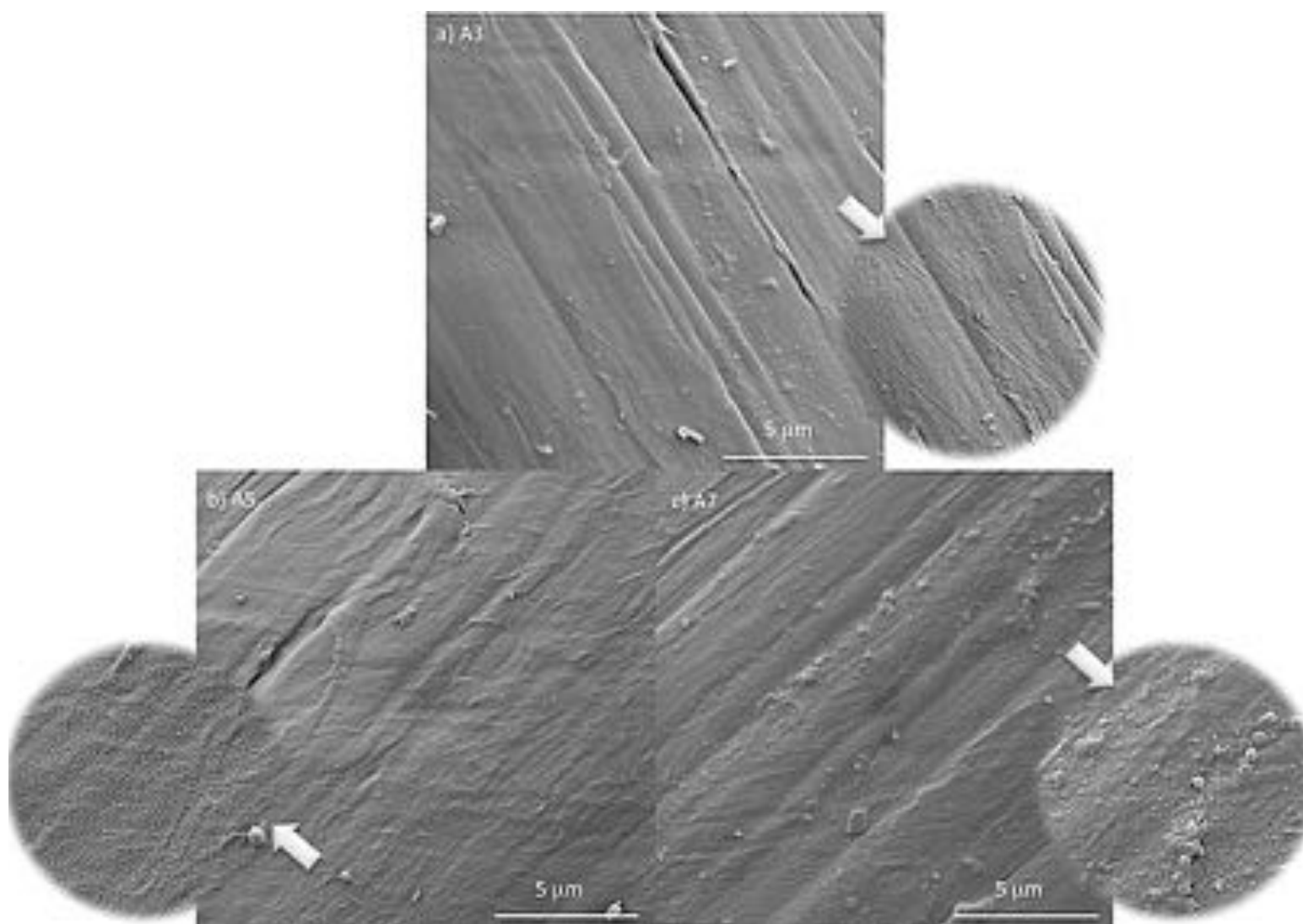


Figura 32. FEG 10.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.

Os resultados mostram que para a menor potência estudada, 3 W, o filme fino apresenta *clusters* de prata com variação de tamanho, evidenciados na região ampliada. Aumentando a potência para 5 W, uma maior quantidade de átomos de prata chega na superfície do polímero uniformizando o tamanho dos *clusters* e sua distribuição. Pode-se observar também uma sobreposição de camadas constituintes do filme fino. Já para 7 W de potência, os átomos de prata possuem maior mobilidade aumentando a difusão superficial da prata, o que leva à formação de aglomerados (*clusters*) maiores.

Imagens com aumentos maiores foram feitas para melhor visualização da dispersão dos *clusters* de prata. Como mostra a Figura 33 nos filmes finos com aumento de 100.000 vezes e na Figura 34 com aumento de 250.000 vezes.

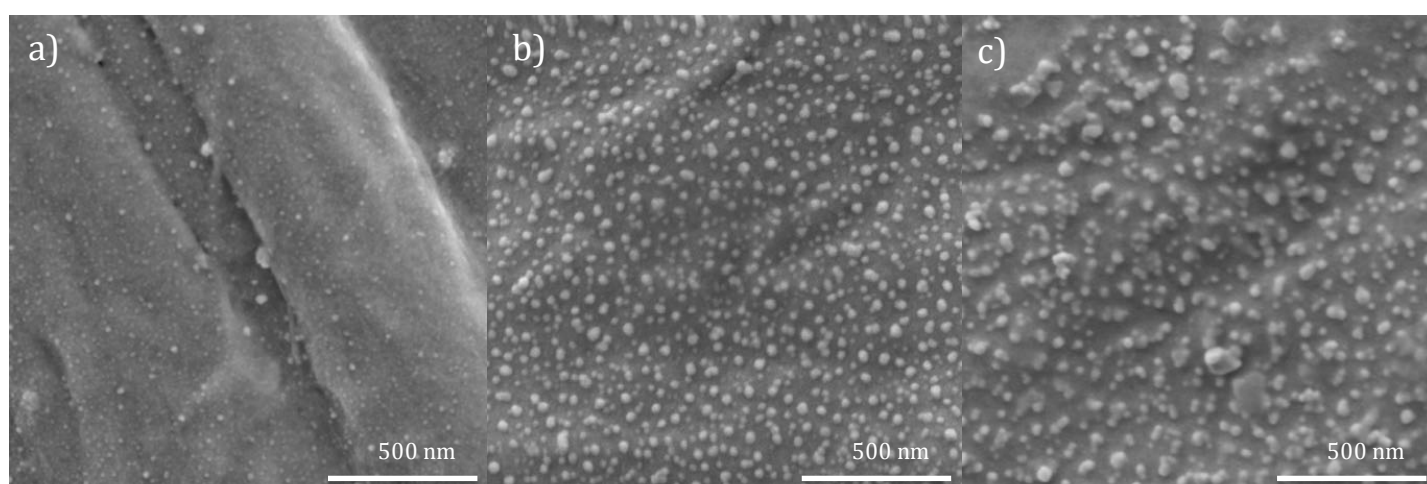


Figura 33. FEG 100.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.

Observa-se um aumento no tamanho médio dos *clusters* com o aumento da potência aplicada ao alvo de prata. O aumento da energia implica em uma maior mobilidade das partículas metálicas que chegam ao filme, que por conseguinte coalescem aumentando o tamanho médio dos *clusters*. A partir das imagens dos filmes de prata, foi constatado que a morfologia dos aglomerados está relacionada à mobilidade dos átomos durante o crescimento dos filmes finos. Influenciando a nucleação e combinação de aglomerados.

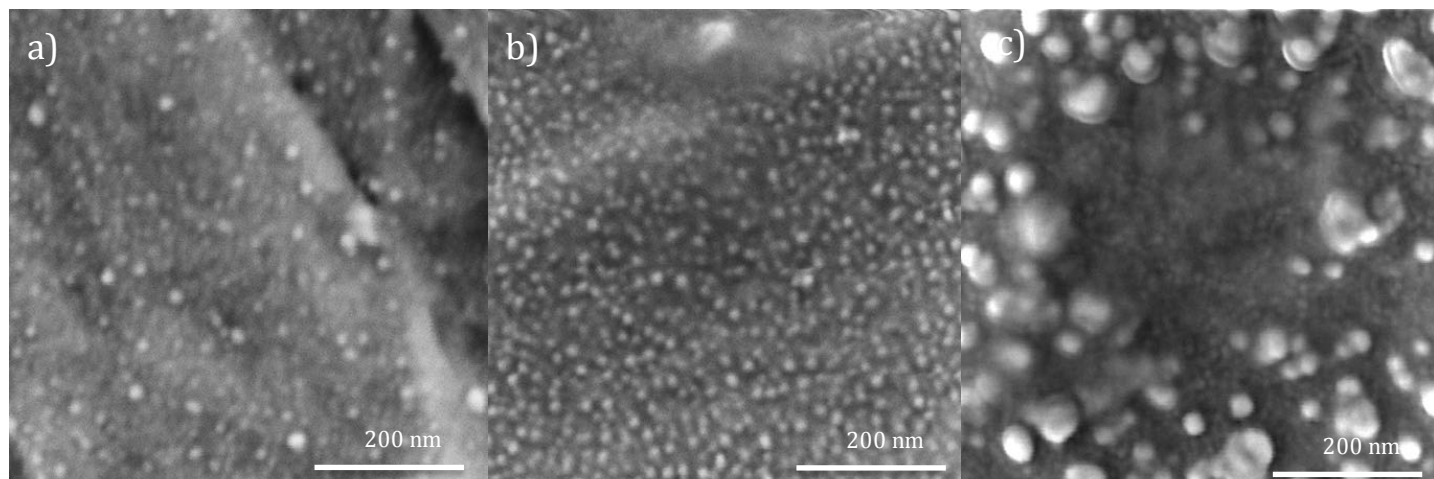


Figura 34. FEG 250.000x dos nanofilmes de prata depositados com a) 3 W b) 5 W c) 7 W.

Com o aumento de 250.000 vezes, observa-se uma dispersão nos tamanhos dos aglomerados de prata para a amostra A3, Figura 34 a), e uma homogeneidade para a amostra A5, Figura 34 b). Para a amostra A7, Figura 34 c), devido à saturação da quantidade de aglomerados de prata que atingem um tamanho ótimo. Os átomos se ligam e crescem de forma colunar uns sobre os outros gerando aglomerados maiores afim de minimizar a energia do sistema.

Para aplicações biomédicas, a morfologia e a rugosidade da superfície são de extrema importância em vista da presença de pontos de ancoragem para as células possibilitando a proliferação celular. Como discutido previamente, o tamanho e a dispersão dos *clusters* de prata está diretamente relacionado ao efeito antimicrobiano do filme. Além dos parâmetros físicos, a química da superfície também influencia a resposta biológica do material. Para o estudo da distribuição dos elementos químicos na superfície das fibras da tela foi realizado o mapeamento por Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS), mostrado na Figura 35.

Os resultados indicam uma grande quantidade de oxigênio na superfície das telas e sua correspondência com o mapa do carbono. Também é possível destacar o efeito da potência ao aumento gradual do teor de prata na superfície da fibra bem como sua distribuição de modo mais homogêneo. De acordo com o mapeamento das fibras poliméricas podemos prever estados oxidativos para a prata e o carbono superficiais, porém, como se trata de um dado qualitativo, maior detalhamento das espécies químicas da superfície pode ser alcançado utilizando outras caracterizações, como FT-IR e XPS.

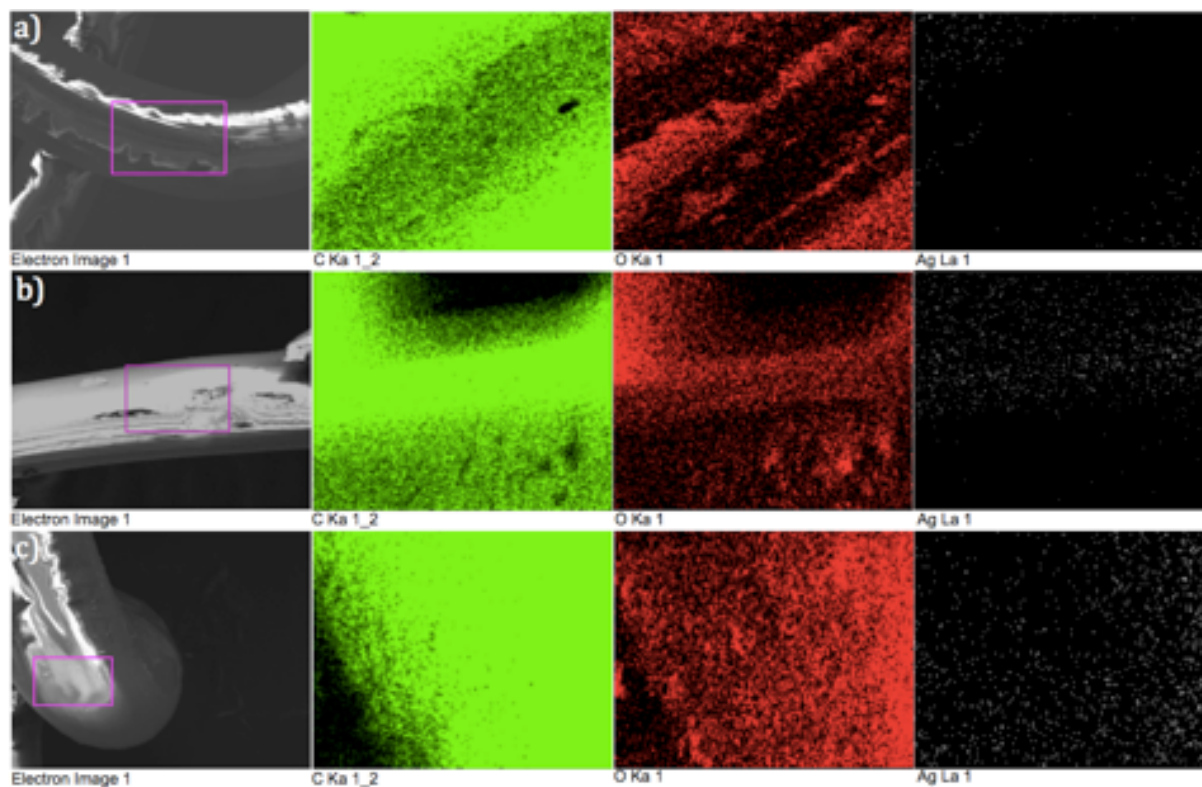


Figura 35. Mapeamento EDS das fibras recobertas com nanofilmes de Ag a) A3 b) A5 c) A7.

4.1.5 Microscopia de Força Atômica

O perfil 3D da superfície da folha de polipropileno sem tratamento mostrado na Figura 36 evidencia a presença de ranhuras e rugosidade relativamente baixas.

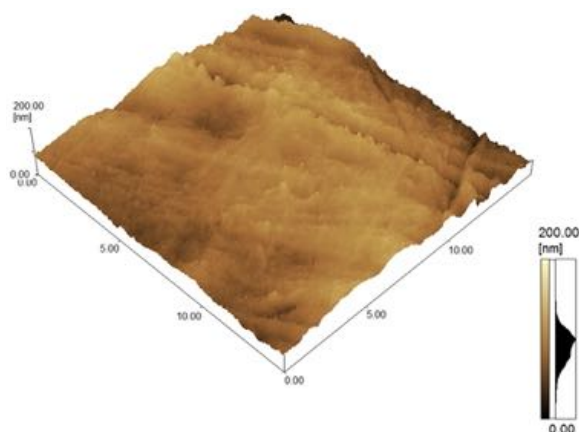


Figura 36. Perfil 3D em área de (15x15) μm do substrato de polipropileno sem revestimento.

Os perfis 3D das amostras revestidas com nanofilmes de DLC mostrados na Figura 37 revela as características topográficas e morfológicas dos filmes depositados. A deposição dos

nanofilmes leva a um aumento da rugosidade da superfície com a presença de regiões com a prevalência de aglomerados de partículas.

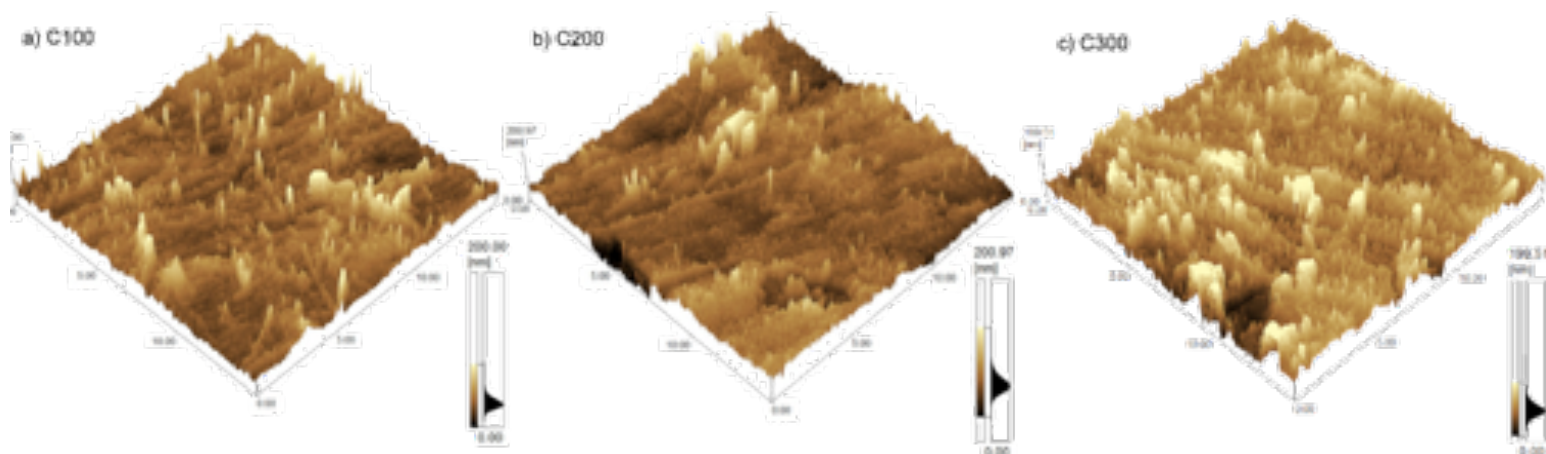


Figura 37. Perfil 3D em área de $(15 \times 15) \mu\text{m}$ das amostras revestidas com nanofilmes de DLC a) C100 b) C200 e c) C300.

Para melhor avaliação morfológica dos nanofilmes foram feitas imagens 2D das amostras de DLC e do substrato polimérico em áreas de $(4 \times 4) \mu\text{m}$ e $(2 \times 2) \mu\text{m}$, apresentadas na Figura 38.

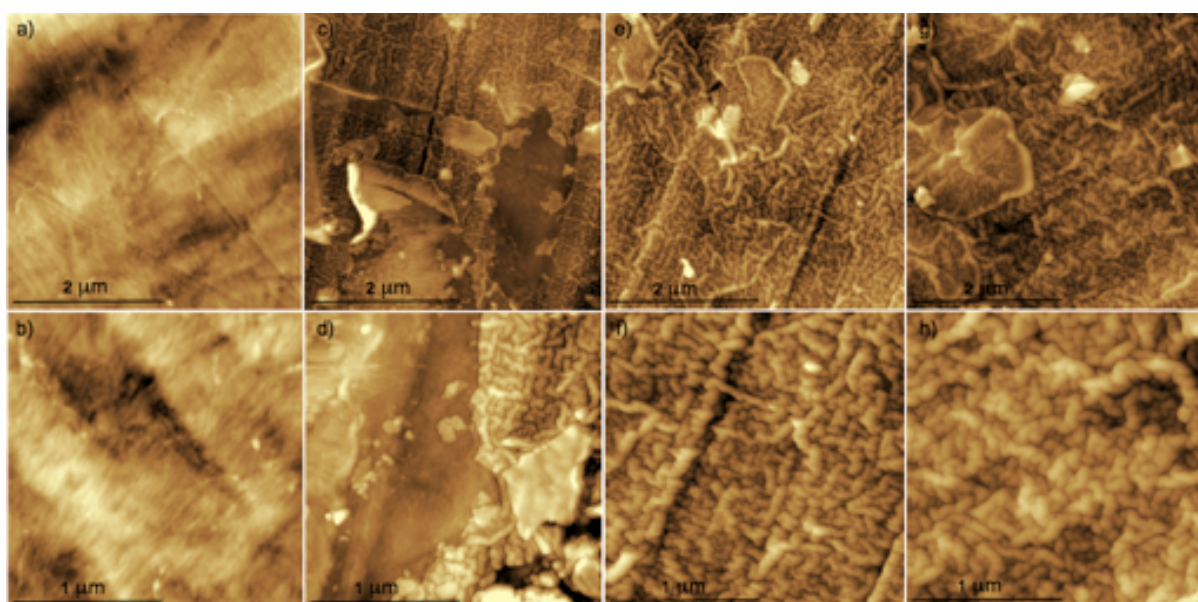


Figura 38. Imagens 2D do substrato a) PP $(4 \times 4) \mu\text{m}$ b) PP $(2 \times 2) \mu\text{m}$ e dos nanofilmes de DLC c) C100 $(4 \times 4) \mu\text{m}$ d) C100 $(2 \times 2) \mu\text{m}$ e) C200 $(4 \times 4) \mu\text{m}$ f) C200 $(2 \times 2) \mu\text{m}$ g) C300 $(4 \times 4) \mu\text{m}$ e h) C300 $(2 \times 2) \mu\text{m}$.

Observa-se que o polipropileno apresenta uma superfície mais lisa com ranhuras advindas do processo de fabricação (Fig. 38 a e b). Para o filme de DLC depositado com a menor potência estudada, amostra C100 (Fig. 38 c e d), visualiza-se ainda um recobrimento não uniforme com regiões aparentes do substrato. Já aplicando uma potência de deposição maior, amostra C200 (Fig. 38 e e f), pode-se perceber a presença de um filme uniforme revestindo a superfície do polipropileno com aglomerados de estruturas típicas do DLC. Para o filme de DLC depositado com a maior potência, amostra C300 (Fig. 38 g e h), além de apresentar um filme mais homogêneo observa-se um aumento na densidade dos aglomerados de estruturas carbonosas.

No perfil 3D mostrado na Figura 39 para os filmes finos de prata, observa-se novamente o aumento da rugosidade em relação ao substrato polimérico sem tratamento, com a amostra A5 apresentando maior valor de rugosidade média quadrática (Rms), devido ao crescimento irregular do filme com epilhamento de camadas, porém, a amostra A7 apresentou maior perfil de rugosidade (Rz), devido ao crescimento colunar dos aglomerados de prata.

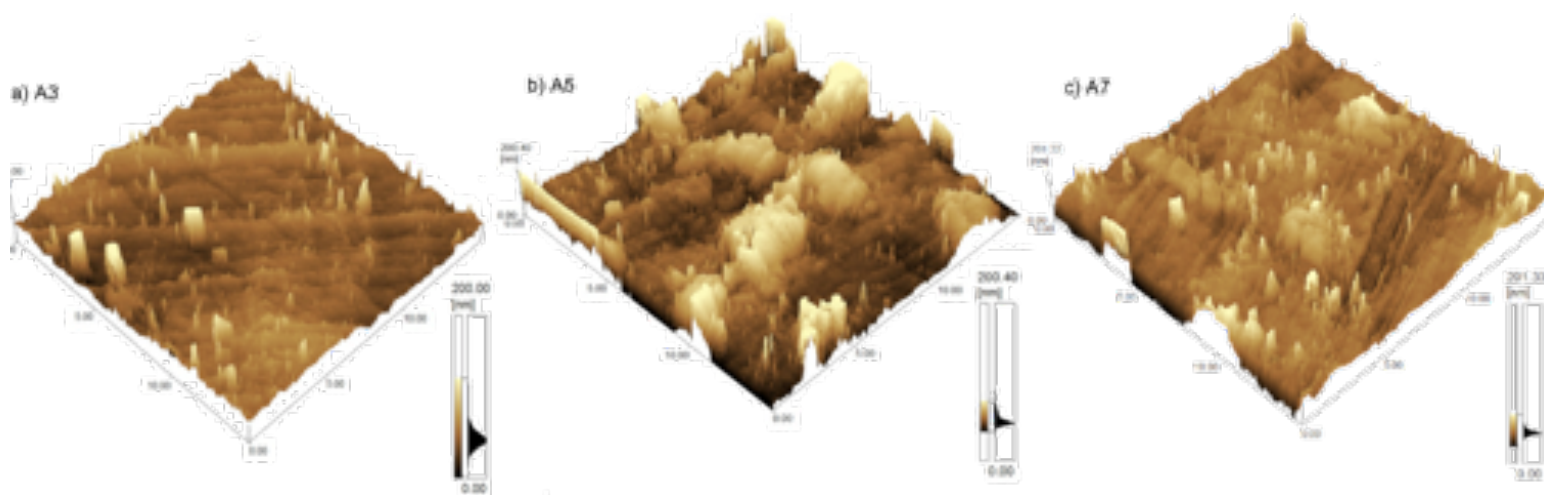


Figura 39. Perfil 3D em área de (15x15) μm das amostras revestidas com nanofilmes de prata a) A3 b) A5 e c) A7.

Na Figura 40 são apresentadas as imagens 2D da superfície dos filmes de prata, as quais evidenciam a presença de partículas de prata em formato arredondado. Para o filme depositado com a menor potência estudada, amostra A3 (Figuras 40 c e d), visualiza-se ranhuras típicas do substrato polimérico, indicando que possivelmente não foi formado um revestimento totalmente uniforme. Para a amostra A5 (Fig. 40 e e f), não é mais possível identificar as ranhuras do substrato, devido a formação de um filme mais espesso com

empilhamento irregular de camadas. Para a amostra depositada com a maior potência estudada, amostra A7 (Fig. 40 g e h), obtém-se um filme mais compacto com a presença de partículas de prata coalescidas de modo colunar.

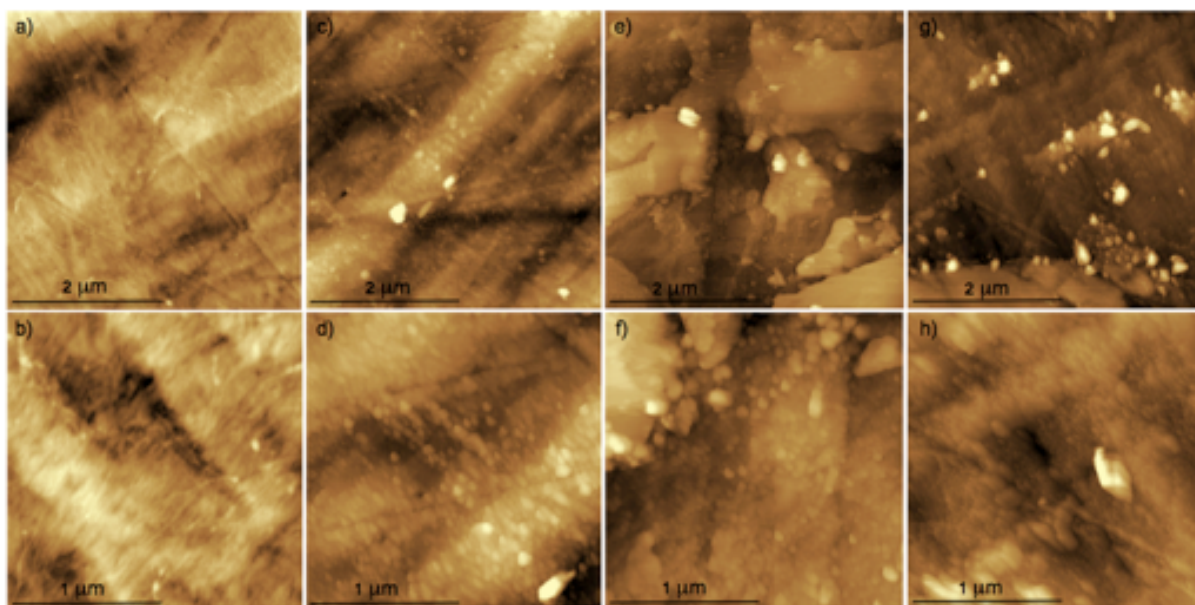


Figura 40. Imagens 2D do substrato a) PP (4x4) μm b) PP (2x2) μm e dos nanofilmes de prata c) A3 (4x4) μm d) A3 (2x2) μm e) A5 (4x4) μm f) A5 (2x2) μm g) A7 (4x4) μm e h) A7 (2x2) μm .

As partículas de prata têm tendência de se agregar na superfície durante o processo de deposição [253], e para as amostras estudadas observa-se a formação de diferentes morfologias e tamanhos de partículas, indicando que as potências de processamento influenciam nas características finais dos filmes finos. Consequentemente na sua interação com meios biológicos, onde as estruturas de superfície regem as interações físico-químicas e celulares.

Os parâmetros de rugosidade Rz e Rms apresentados na Figura 41 mostram que o valor de Rms das amostras se manteve em torno de 25 nm, havendo um aumento somente para as amostras C300 e A5, devido à presença em maior quantidade de grandes estruturas na superfície. O parâmetro Rz informa sobre a distribuição média vertical dessas estruturas, em que observa-se um aumento desse valor para todos os filmes depositados em relação ao substrato sem processamento.

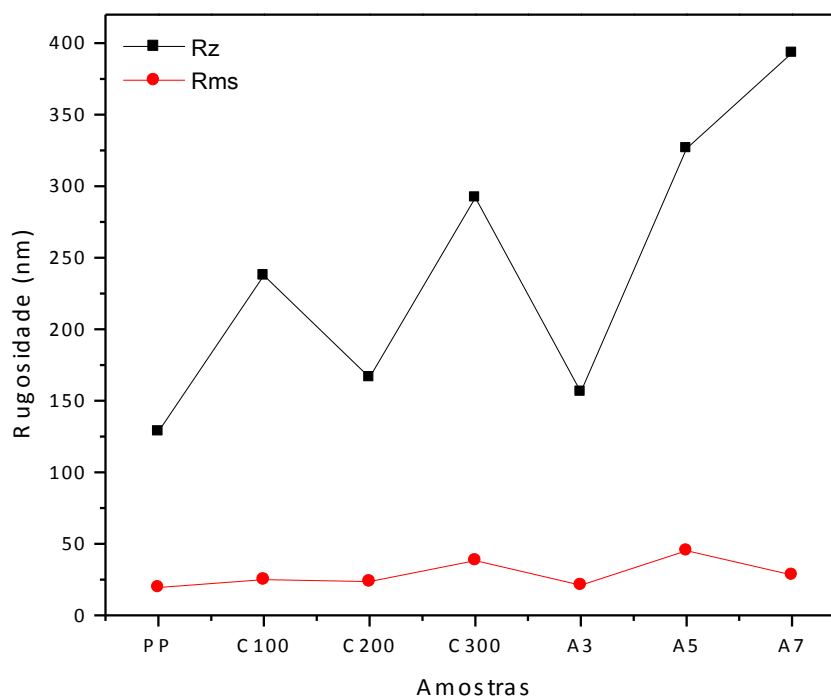


Figura 41. Parâmetros de rugosidade Rz e Rms.

Para a deposição de DLC há inicialmente um aumento de Rz para a amostra C100 depois uma redução para a amostra C200 e novamente um aumento para a amostra C300. Estes resultados estão de acordo com os perfis de superfície analisados por AFM e MEV, e diretamente relacionados com a morfologia dos nanofilmes depositados. A amostra C100 trata-se de um filme irregular apresentando variação de alturas, seguido por um filme mais compacto referente a amostra C200 e um posterior aumento vertical dos aglomerados gráfiticos para a amostra C300.

Para os filmes de prata, a amostra A3 apresenta valores de Rz próximo do substrato polimérico, devido à deposição de pouco material na superfície, e posteriormente para as amostras A5 e A7 há um aumento progressivo, devido à maior quantidade de prata nos filmes. Como observado também nas análises de MEV e AFM, uma maior quantidade de prata leva à coalescência em grandes aglomerados de partículas com crescimento colunar atingindo em torno de 400 nm de altura para a amostra A7. Este parâmetro é muito importante para materiais com aplicações cirúrgicas que necessitam de pontos superficiais de ancoragem para fixação e proliferação celular.

4.1.6 Espectrometria de emissão óptica com plasma

A quantificação da concentração de prata dos nanofilmes depositados é mostrada nas curvas azul e laranja da Figura 42, resultando em uma concentração média de 0,07 ppm. Este valor se encontra no intervalo do limite de detecção do equipamento, curva verde e vermelha, podendo ser considerado uma estimativa pois não há confiabilidade na leitura.

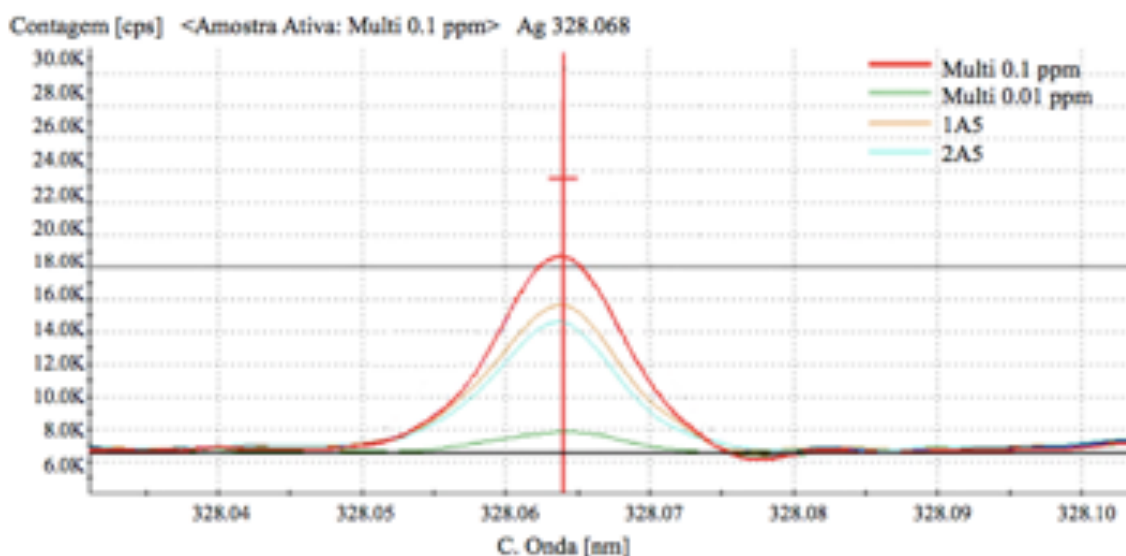


Figura 42. Linha de emissão do equipamento e das amostras de prata.

Esta técnica não é ideal para a aferição da prata nas amostras produzidas em vista dos valores de concentrações muito baixas, no entanto, pode-se considerar que concentração de prata presente nas amostras depositadas é $< 0,1$ ppm.

4.1.7 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros FT-IR das telas de PP tratadas com filmes finos foram analisados para os diferentes materiais depositados e valores de potência de descarga utilizadas no tratamento. Na Figura 43 são mostrados os espectros das telas revestidas com nanofilmes de DLC e na Figura 44 os espectros das telas revestidas com nanofilmes de prata. Pode-se correlacionar as ligações químicas e a composição do material com as potências utilizadas na deposição dos filmes finos de DLC e prata.

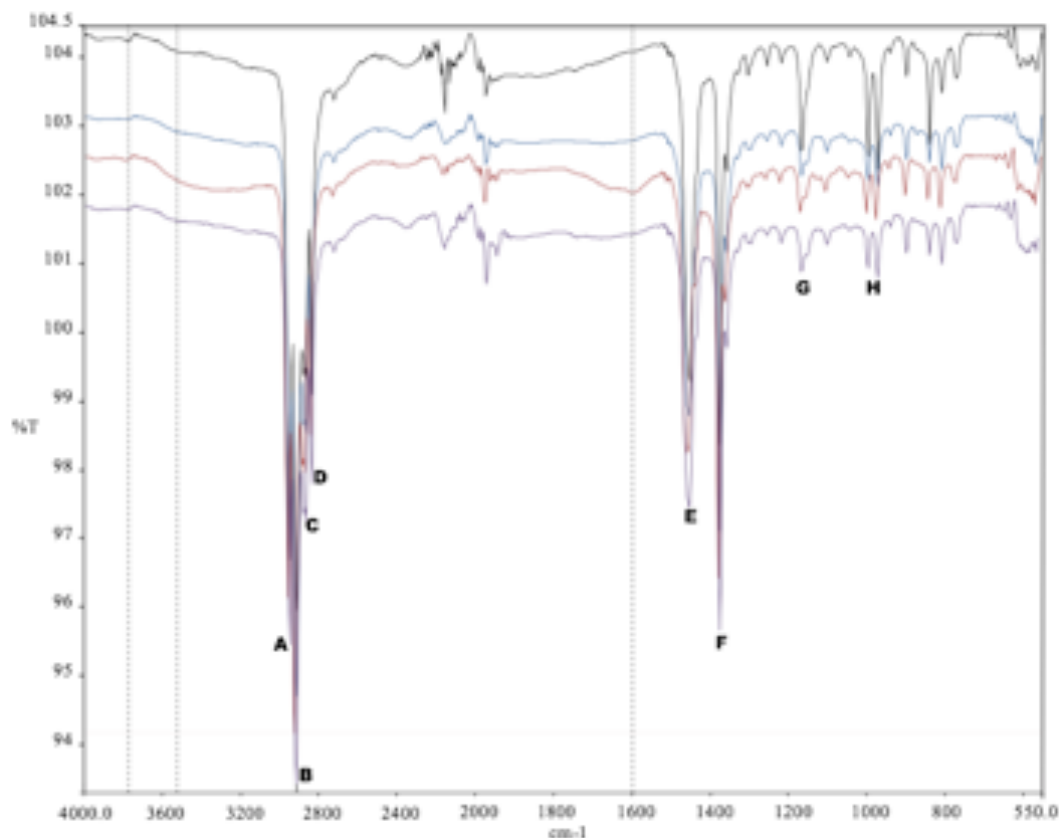


Figura 43. Espectro FT-IR da tela sem tratamento em preto; com nanofilme C100 em azul; com nanofilme C200 em vermelho e com nanofilme C300 em roxo.

A vibração de estiramento assimétrica dos grupos CH₃ e CH₂ é observada nas posições A e B que correspondem ao número de onda 2950 cm⁻¹ e 2920 cm⁻¹, respectivamente. O estiramento simétrico CH₃ e CH é observado na posição C (2870 cm⁻¹) e na posição D (2836 cm⁻¹) para o CH₂. As vibrações de dobramento angular simétricas e assimétricas do grupo metil são observadas nas posições E e F (1455 cm⁻¹ e 1376 cm⁻¹), respectivamente. E as bandas de absorção na posição G (1166 cm⁻¹) e H (974 cm⁻¹) referentes as vibrações características dos grupos CH₂ insaturados terminais, são típicas do PP isotático [254].

Com a deposição dos nanofilmes na tela de polipropileno, a maioria dessas bandas diminui em sua intensidade, o que pode ser atribuída a pequenas diferenças na posição da absorção desta ligação, devido à variação do ambiente químico da cadeia polimérica levando a um alargamento da banda de absorção e uma conseqüente redução de sua intensidade [255].

Além disso, nos espectros das amostras tratadas com filmes finos depositados com as maiores potências utilizadas, surgem novas bandas na região de 1743 cm⁻¹ para a amostra C200 e em 1682 cm⁻¹ para a amostra A7, correspondendo a carbonila C=O (sinal forte e fraco), respectivamente.

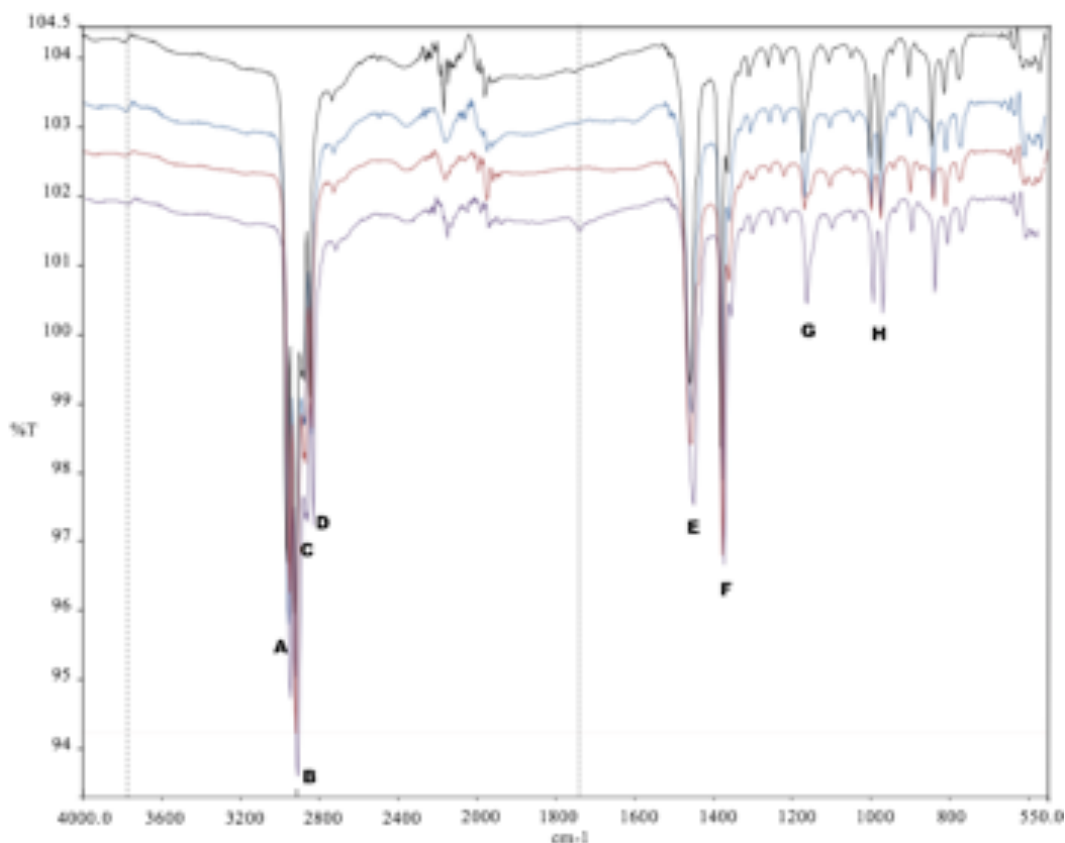


Figura 44. Espectro FT-IR da tela sem tratamento em preto; com nanofilme A3 em azul; com nanofilme A5 em vermelho e com nanofilme A7 em roxo.

O processo de deposição dos nanofilmes indica a presença de hidroxilas e carbonilas, o que pode gerar uma modificação estrutural da tela polimérica, que não é desejável devido às aplicações cirúrgicas do material, podendo acarretar em problemas e falha do implante levando a sua remoção do paciente.

A deposição dos nanofilmes em potências mais elevadas pode levar à ionização e excitação das moléculas do substrato polimérico criando sítios insaturados envolvendo conjugação ou duplas ligações. Este efeito decorrente do processo pode acarretar principalmente na desidrogenação do polímero, que sofre cisão homolítica dominante das ligações C-H para formar radicais livres de hidrogênio. A presença de radicais livres, conhecidos por serem moléculas instáveis que tendem a se reticular rapidamente umas com as outras, pode induzir um aumento da reticulação do polímero, o que corresponde a uma estrutura mais rígida [256].

4.1.8 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

Às análises de XPS foram realizadas para a aferição mais precisa quanto à química da superfície das telas cirúrgicas antes e após a deposição de nanofilmes. A Tabela 5 apresenta os percentuais de concentração atômica dos elementos químicos presentes na superfície das amostras.

Tabela 5. Concentração atômica dos elementos químicos na superfície das telas cirúrgicas.

Amostra	Elemento Químico (% atômica)		
	C	O	Ag
PP	97,5	2,5	-
C100	79,5	20,5	-
C200	85,7	14,3	-
C300	88,9	11,1	-
A3	89,9	7,2	2,9
A5	86,3	6,2	7,5
A7	81,5	8,3	10,2

Na superfície da tela de polipropileno antes do processamento nota-se a presença majoritária de carbono, constituinte estrutural dos monômeros das fibras, e uma pequena porcentagem de oxigênio adsorvido na superfície. O recobrimento das telas com nanofilmes de DLC e prata levam a diminuição relativa do percentual de carbono devido ao aumento superficial do oxigênio referente ao processo de deposição a plasma, e a presença de prata para as amostras A3, A5 e A7, como efeito, reduz-se na superfície espécies com diferentes estados de oxidação.

A investigação quantitativa das proporções das espécies químicas presentes na superfície das amostras, foi feita a partir da deconvolução do espectro em alta resolução do pico C 1s. Para a amostra de tela aparece somente um pico em 284,8 eV correspondente aos grupos funcionais C-C e C-H, apresentado na Figura 45.

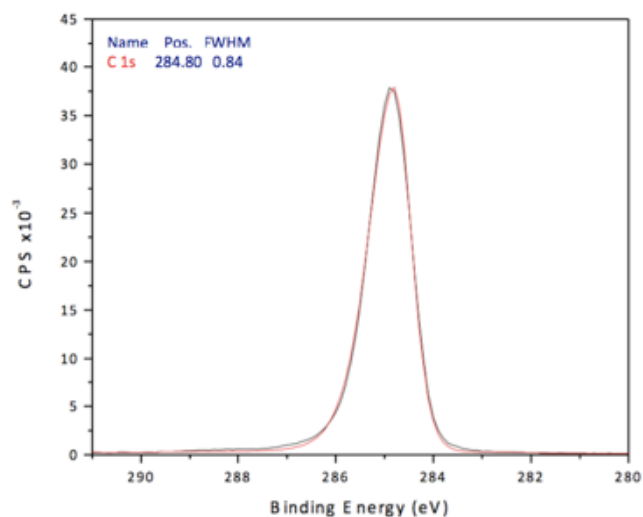


Figura 45. Curva de alta resolução do pico C 1s para a tela de polipropileno.

Os espectros de alta resolução das amostras de tela revestidas com nanofilmes de DLC são apresentados na Figura 46.

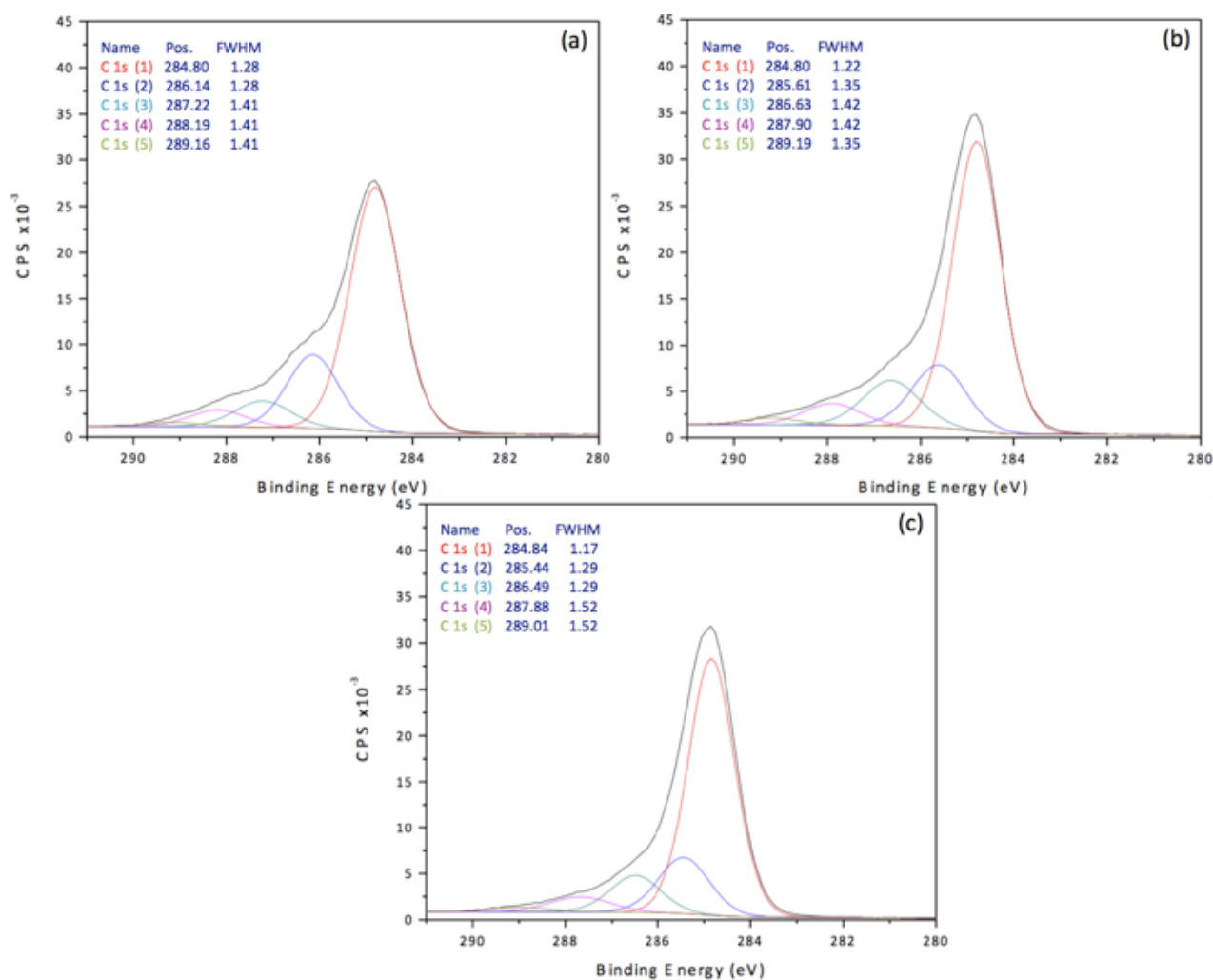


Figura 46. Curva de alta resolução do pico C 1s da tela recoberta com os nanofilmes de DLC a) C100, b) C200 e c) C300.

Pode-se observar que o pico C 1s é deconvolvido em 5 picos com energia em aproximadamente 284,8 eV referente ao estados C1s (1), 285,7 eV para o estado C 1s (2), 286,8 eV para o estado C 1s (3), 287,9 eV para o estado C 1s (4) e 289,1 eV para o estado C 1s (5). O estado C 1s (1) para o DLC é destacado na literatura [257, 258] como correspondente as ligações carbono-carbono com configuração sp^2 e o estado C 1s (2) referente a configuração sp^3 . Já os estados C 1s (3), C 1s (4) e C 1s(5) estão relacionados a ligações C-O/C-OH, C=O e COOH, respectivamente [259, 260].

Os espectros de alta resolução do pico C 1s das amostras de tela revestidas com nanofilmes de prata são apresentados na Figura 47.

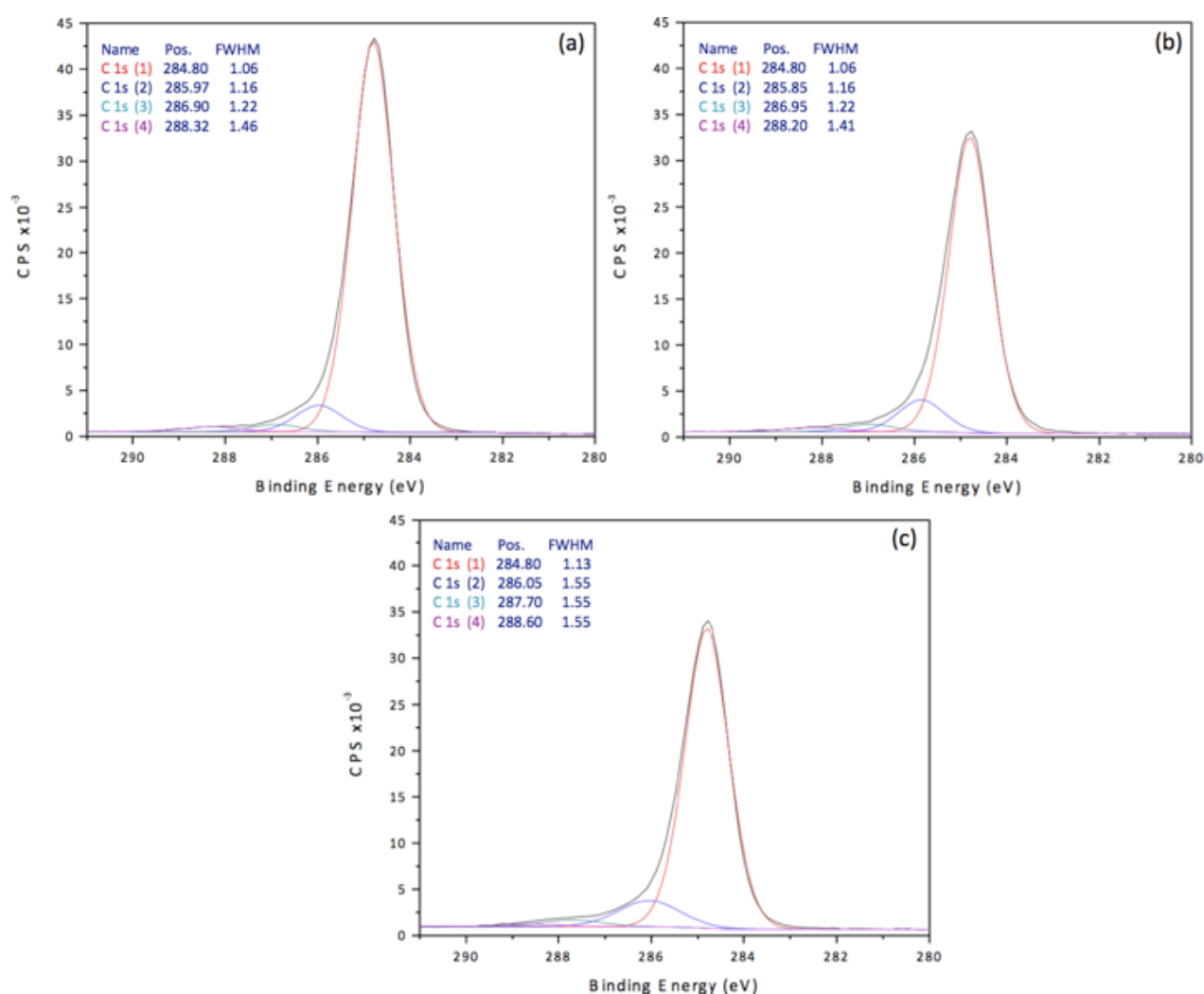


Figura 47. Curva de alta resolução do pico C 1s da tela recoberta com os nanofilmes de prata a) A3, b) A5 e c) A7.

Nota-se a presença de somente 4 picos com energia em aproximadamente 284,8 eV referente ao estados C 1s (1), 285,9 eV para o estado C 1s (2), 287,2 eV para o estado C 1s

(3), 288,4 eV para o estado C 1s (4). O pico referente as ligações sp^3 do carbono não estão presentes, somente as ligações carbonosas das cadeias poliméricas do substrato de polipropileno, e os estados deconvoluídos estão correlatos aos mesmos grupos funcionais apresentados previamente. C 1s (1) ligações C-C, C 1s (2) ligações C-O/C-OH, C 1s (3) ligações C=O e C 1s (4) ligações COOH.

As amostras apresentam majoritariamente ligações C-C do substrato polimérico, C 1s (1), que vão diminuindo conforme a inserção de estados oxidados do processo de deposição utilizando potências maiores no alvo de prata. Este resultado era esperado visto que o processamento das amostras envolve o crescimento de um filme de prata na superfície do polímero, levando a um pequeno percentual de oxidação das cadeias poliméricas da tela.

O conteúdo relativo de cada tipo de ligação dentro dos C 1s pode ser encontrado medindo a área do pico para cada fração que representa essa ligação em relação à área total do pico de C 1s. Isso fornece dados qualitativos acerca dos elementos químicos incorporados e grupos funcionais sintetizados, apresentados na Figura 48 para análise comparativa.

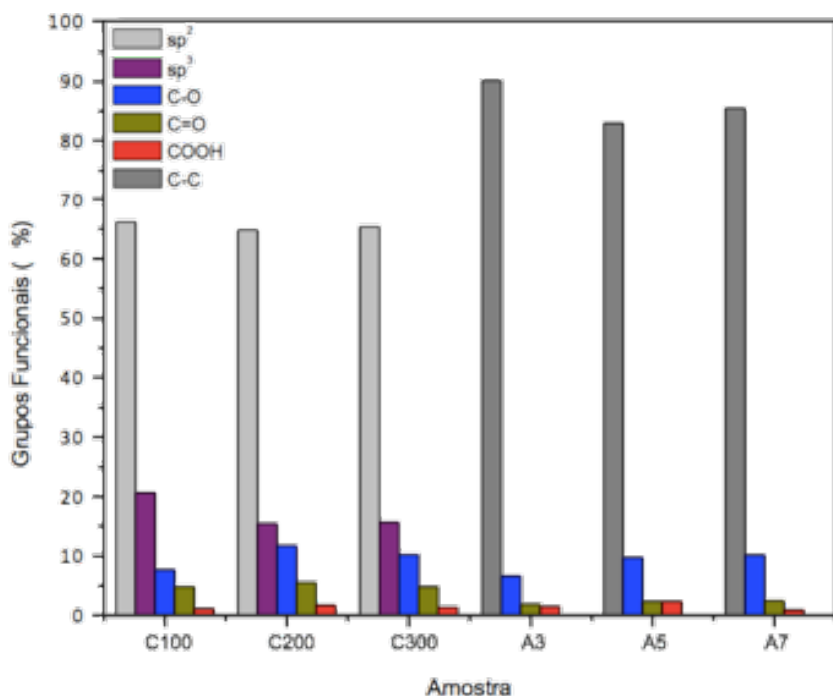


Figura 48. Percentual dos grupos funcionais presentes na superfície das telas recobertas com nanofilmes de DLC e prata.

Os resultados mostram que há uma variação química da superfície das amostras, onde a introdução de estados de oxidação do carbono é maior nos filmes de DLC, sendo que para a amostra C200 ocorre uma maior quantidade de grupos funcionais constituídos por ligações

duplas referente a carbonila (C=O) e maior quantidade de ligações C-O/C-OH, corroborando com os espectros analisados por FT-IR. A proporção entre ligações sp^2 e sp^3 do carbono amorfo tipo diamante vai de 3,2 para a amostra C100, para 4,2 para as amostras C200 e C300, porém, a grande quantidade de ligações entre oxigênio e carbono na superfície da amostra C200 pode levar ao aumento das ligações sp^3 [260]. Levando em conta a razão sp^2/sp^3 e a influência do oxigênio, podemos prever uma maior formação de aglomerados grafiticos para a amostra C300, o que está de acordo com as análises de MEV estudadas.

Da Tabela 5, verifica-se que a porcentagem de prata na superfície das amostras aumenta gradativamente com o aumento da potência aplicada no alvo de 2,9 % para a amostra A3 a 10,2 % para a amostra A7. Conforme ilustrado na Figura 49, as amostras de tela revestidas com nanofilmes de prata apresentam um duplete correspondendo às transições Ag 3d_{5/2} e Ag 3d_{3/2}. Os picos centrados em cerca de 368,1 e 374,2 eV são relacionados a prata metálica, e os picos centrados a energias inferiores, em aproximadamente 366,7 e 373,0 eV, são atribuíveis aos estados oxidativos da prata [261]. O componente Ag 3d_{5/2} com energia de ligação de 367,9 eV foi relatado para Ag₂O, enquanto que para AgO, o valor diminui para 367,4 eV [262].

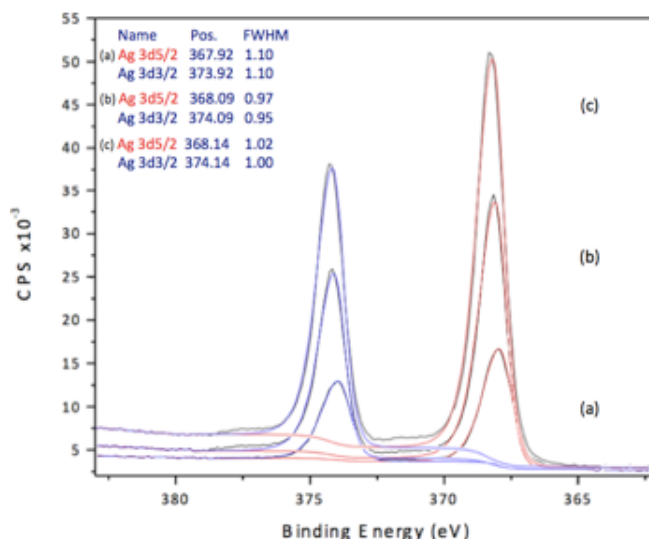


Figura 49. Curva de alta resolução dos picos Ag 3d da tela recoberta com os nanofilmes de prata a) A3, b) A5 e c) A7.

O aumento da concentração de prata na superfície leva ao aumento da intensidade das transições Ag 3d, em que para a amostra A3 há uma diminuição da energia de ligação em comparação as amostras A5 e A7, indicando a oxidação de Ag⁰ a Ag⁺ e a formação de Ag₂O. No entanto, as energias de ligação correspondentes ao Ag 3d_{5/2} do Ag⁰ (Ag), Ag⁺ (Ag₂O) e

Ag^{2+} (AgO) são muito semelhantes e se encontram na faixa de 368.0 - 368.3, 367.6 - 367.9 e 367.3 - 367.4 eV, respectivamente [263].

Uma vez que todas as energias estão em uma faixa tão estreita, torna-se difícil realizar uma análise quantitativa dos estados de oxidação da prata com alta precisão a partir da deconvolução de espectros XPS. Por esse motivo, o pico O 1s, indicado na Figura 50, também foi investigado como uma medida do estado de oxidação da prata.

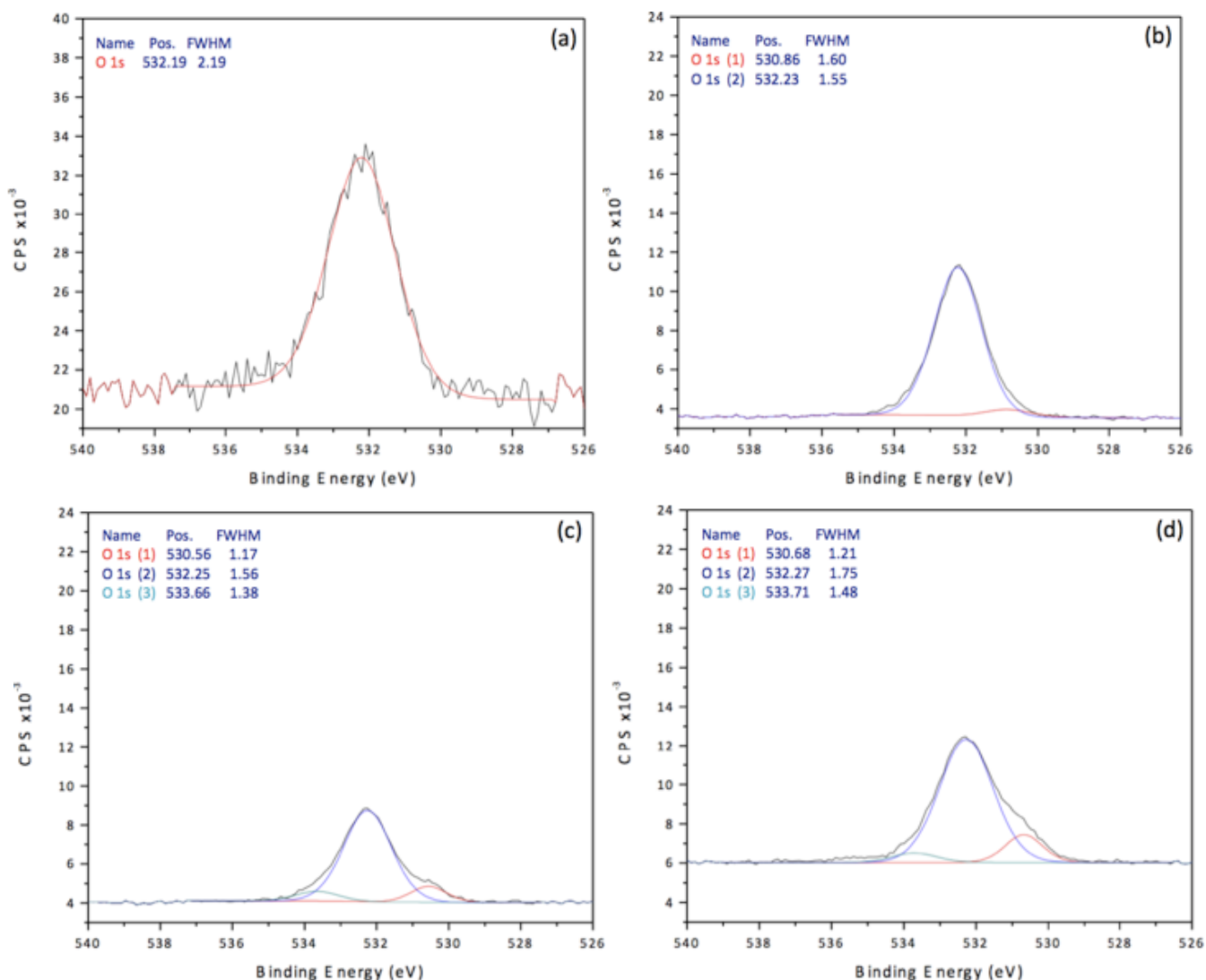


Figura 50. Curva de alta resolução do pico O 1s para a) tela pura e com nanofilmes de prata b) A3, c) A5 e d) A7.

Os espectros XPS para o O 1s são centrados em cerca de 532 eV, como constatado para a tela sem processamento, Figura 50 a), com a deposição de prata surge um segundo pico em 530,8 eV, Figura 50 b), e com o aumento da potência aplicada ao alvo metálico na deposição dos nanofilmes aparece um terceiro pico em torno de 533,7 eV, Figura 50 c) e d).

Os picos O 1s ajustados nas energias 530,7 eV, 532,0 eV e 533,8 eV são atribuídos ao Ag_2O , AgO , e $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, respectivamente [260, 264].

Da Tabela 5 observa-se que a amostra A3 possui 2,9% de prata, a amostra A5 7,5% e a amostra A7 10,2%. A partir das deconvoluções das ligações O 1s (1) e O 1s (2) da Figura 50, foi possível calcular a porcentagem de oxidação da prata, resultando em 6,9% para a amostra A3, 5,5% para a amostra A5 e 7,3% para a amostra A7.

Para a amostra A3, toda a prata da superfície do filme se encontra ligada com oxigênio, como já previsto nos espectros Ag 3d da Figura 49, visto que a porcentagem de oxidação foi de 6,9% e a quantidade de prata no filme de 2,9%, conseqüentemente, 4% dos estados oxidativos restantes são de ligações com o carbono. A amostra A5 apresentou 5,5% de oxidação, havendo 2% de prata metálica na superfície, e por fim a superfície da amostra A7 contém 7,3% de oxidação (Ag^+ e Ag^{2+}) possuindo 2,9% de prata metálica na superfície (Ag^0).

4.1.9 Ensaio Mecânico

O resultado dos ensaios de microtração uniaxial são registrados na forma de um gráfico da carga em função do deslocamento como mostrado na Figura 51 para as telas de alta e baixa densidade em preto e vermelho, respectivamente.

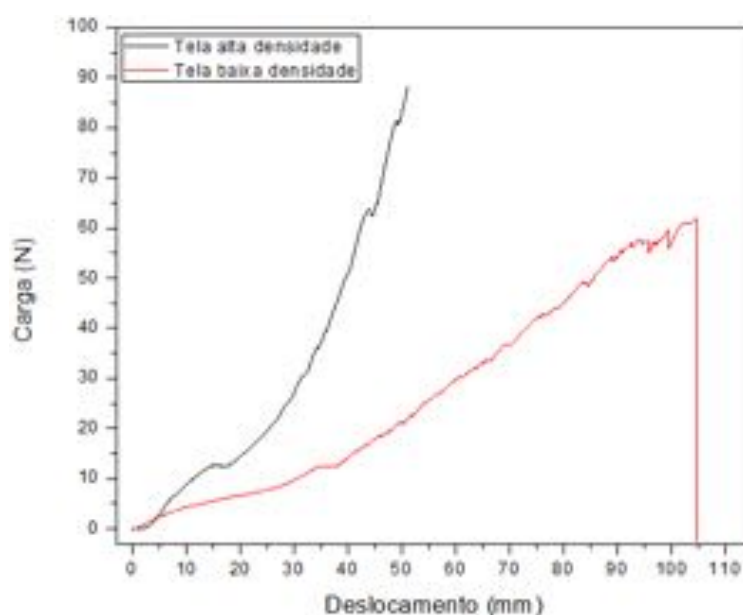


Figura 51. Curvas de carga vs deslocamento para as telas de polipropileno de alta e baixa densidade.

As propriedades mecânicas da tela estão principalmente relacionadas à sua conformação têxtil, sendo possível verificar nitidamente que para as telas fabricadas com polipropileno, a alta ou baixa densidade do implante modifica a resposta do material a uma tração uniaxial. Para as telas de polipropileno de alta densidade foi encontrado 83 N/cm de resistência à tração, e para a tela polimérica de baixa densidade 51 N/cm. A resistência à tração superiores a 100 N/cm de muitas telas sintéticas convencionais são desproporcionais para uma reparação efetiva, visto que ao atingir uma resistência à tração de pelo menos 32 N/cm já seria suficiente para aplicação intra-abdominal [37].

A rigidez de membrana das amostras estudadas variou de 1,1 a 1,5 N/mm para as telas de alta densidade e de 0,3 a 0,5 N/mm para as telas de baixa densidade. Pott et al. [35] estudaram seis telas compostas por diferentes matérias-primas e diferentes estruturas têxteis, as quais apresentaram diferenças na resistência à tração máxima de 11 a 101 N/cm, rigidez de 0,3 a 4,6 N/mm e alongamento à ruptura de até 340%. Já na revisão da literatura de Todros et al. [30] foram encontrados valores de resistência à tração máxima de 11 a 121 N/cm e rigidez de membrana de 0,1 a 19,4 N/mm. A rigidez e a força de ruptura também variam muito entre as telas disponíveis para o reparo da hérnia e a maioria das telas exibe anisotropia significativa em termos de seu comportamento mecânico [30].

Além da falta de normas refletir na realização de diferentes métodos de ensaio sem protocolo e consequentes dificuldades na comparação de resultados, o estudo das principais características das telas cirúrgicas fundamentado em parâmetros dependentes do tamanho da amostra também contribuem para a grande variedade de valores encontrados na literatura. No entanto, uma documentação bibliográfica extensa de ensaios mecânicos podem fornecer a base para uma padronização futura e para a definição de propriedades mecânicas fundamentais para avaliar a biocompatibilidade mecânica.

Para a normalização dos parâmetros de ensaio foram gerados gráficos de tensão vs deformação, mostrado na Figura 52 para a tela de alta densidade e na Figura 54 para a tela de baixa densidade, para minimização dos fatores geométricos.

A tela de polipropileno sem revestimento está destacada em vermelho e as amostras processadas nas demais cores. A região do regime elástico do material está demarcada pelas linhas tracejadas e a partir do patamar do limite de escoamento (σ_Y) já se constitui o regime plástico. O limite de escoamento é frequentemente o mesmo ou próximo do limite elástico do material, e seu valor foi equivalente para todas as amostras testadas em aproximadamente $1,18 \text{ N/mm}^2$. O limite de escoamento nos mostra a tensão onde a deformação plástica se inicia, após esse limite a tensão necessária para continuar o processo de deformação plástica

aumenta até alcançar um valor máximo, designado limite de resistência à tração (σ_{UTS}) cujo valor foi de $8,33 \text{ N/mm}^2$.

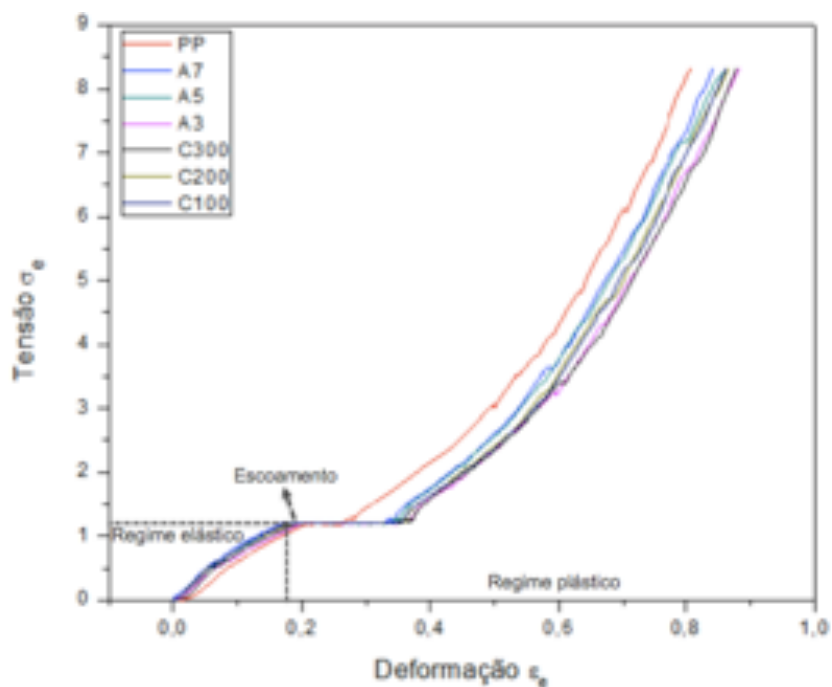


Figura 52. Curvas de tensão versus deformação das telas de alta densidade.

Todas as propriedades mecânicas estudadas para as telas de alta densidade se mantiveram com o tratamento por filmes finos, somente a amostra C200 apresentou aumento do seu módulo elástico, que é proporcional à rigidez do material. Esses resultados corroboram com as análises de FT-IR em que um aumento na rigidez do material foi previsto, devido à reticulação das cadeias poliméricas das fibras da tela induzidas pelo processo de deposição dos filmes finos. Resultado também confirmado na análise de XPS, onde o aumento da resistência à deformação elástica da amostra está relacionado a grande quantidade de ligações C=O. Sabe-se que, a rigidez do material depende fundamentalmente das forças de ligação atômica, a presença de ligações duplas modifica o comprimento e a força das ligações covalentes presentes no material, levando assim a uma maior resistência sob certa tensão aplicada.

O coeficiente angular do regime linear do gráfico (regime elástico) corresponde ao módulo de elasticidade (E) do material, os quais se encontram na Figura 53. Esta propriedade está relacionada à resistência do material à deformação elástica (rigidez).

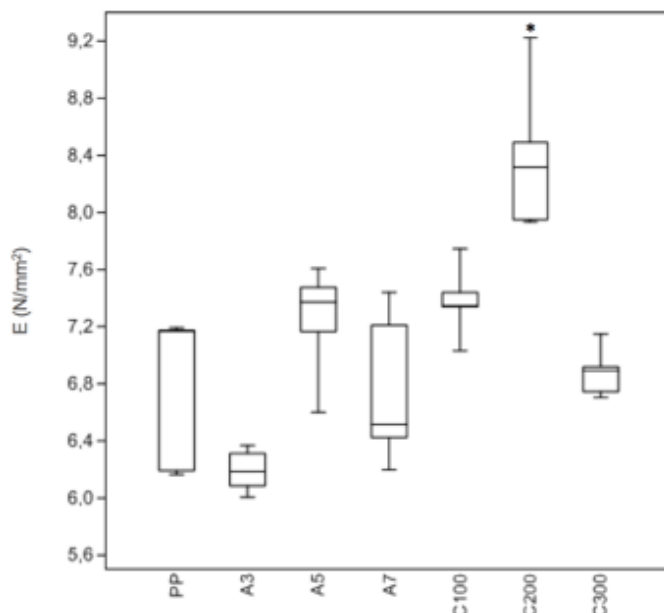


Figura 53. Módulo de elasticidade (E) para as telas de alta densidade. * p valor < 0,05.

As propriedades mecânicas da tela de polipropileno de baixa densidade também foram estudadas a partir das curvas de tensão vs deformação, mostradas na Figura 54. A tela de polipropileno sem revestimento está destacada em vermelho e as amostras processadas nas demais cores. O limite de escoamento obtido para todas as amostras foi de $\sigma_Y = 1,52 \text{ N/mm}^2$, valor maior que para a tela de alta densidade ($1,18 \text{ N/mm}^2$); o que indica uma maior resistência à deformação plástica para esse material.

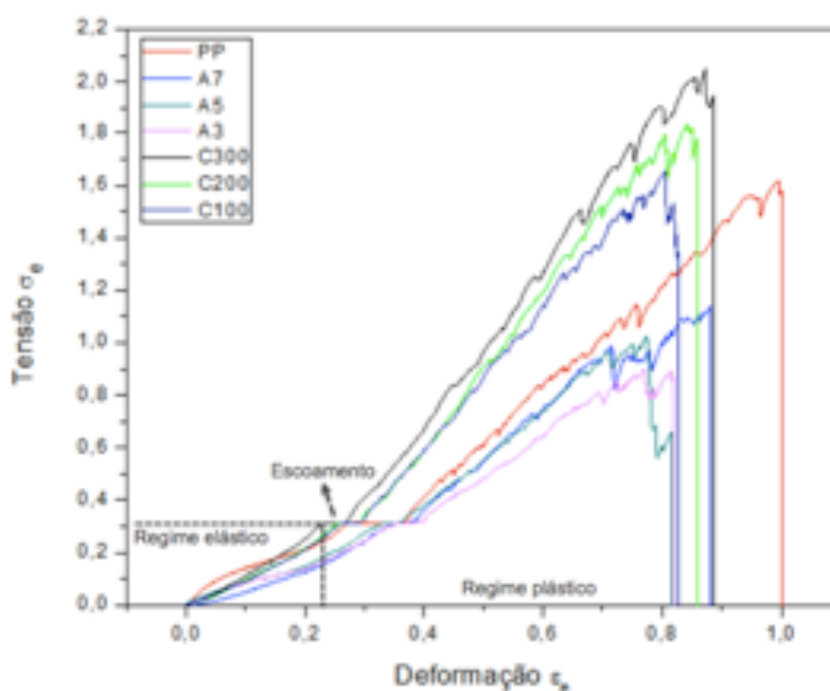


Figura 54. Curvas de tensão versus deformação das telas de baixa densidade.

De todos os tratamentos superficiais aplicados nas fibras não houve diferença estatística em relação ao módulo de elasticidade do material, ficando em torno de 3 N/mm^2 , bem abaixo do valor encontrado para as telas de alta densidade de até 9 N/mm^2 . Este resultado indica grande variação quanto à rigidez das telas, sendo que, para valores maiores ocorre menor deformação elástica resultante da aplicação de uma determinada tensão e por consequência maior a rigidez do material. Essa propriedade está diretamente relacionada a um possível desconforto aos pacientes pós-implantação da tela, uma vez que a falta de correspondência dos módulos de elasticidade da tela e da membrana tecidual estabelece uma transmissão inadequada de cargas na interface implante-tecido levando a complicações clínicas, risco de recorrência e dor pós-operatória [265]. A alta rigidez do implante tem sido associada à erosão tecidual [266], enquanto uma rigidez muito baixa implica em uma função de suporte insuficiente [267].

Apesar do módulo de elasticidade das telas de baixa densidade processadas terem se mantido próximos ao da tela sem revestimento, o módulo de resiliência (U_r), percentual de alongação total das amostras (% El), sua deformação máxima ($\epsilon_{\text{máx}}$), limite de resistência à tração (σ_{UTS}) e o módulo de tenacidade (U_t) foram modificados.

Na Figura 55 são mostrados os valores do percentual de alongação total das amostras (% El), em que para todas as telas recobertas com filmes finos ocorreu menor alongamento gerando amostras menos dúcteis, como pode ser observado pelas curvas de tensão vs deformação. Consequentemente as amostras suportam menos deformações, resultando em valores menores para deformação máxima ($\epsilon_{\text{máx}}$) também.

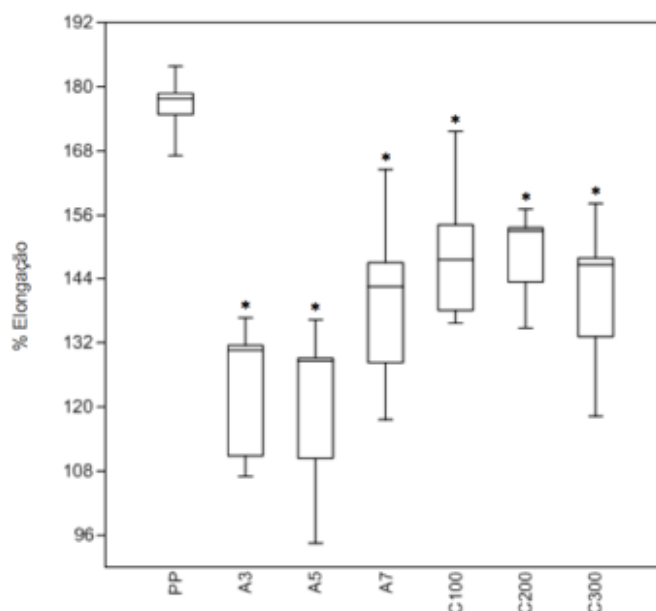


Figura 55. Ductilidade (% El) para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.

DuBay et al. [268] indicam que o uso de telas no reparo da hérnia ventral aumenta a elasticidade da parede abdominal, o que resulta em menores taxas de recorrência. Porém, uma resposta inadequada de tração da tela pode resultar em uma dificuldade de alongamento, levando a resultados funcionais fracos, dor, recorrência ou prolapso. O alongamento da malha também leva à perda de porosidade efetiva na maioria das telas, o que é um aspecto importante para a reação do corpo estranho e formação de cicatrizes [269].

Dos resultados, foi visto que as amostras de tela de baixa densidade revestidas com os filmes finos suportam menor deformação plástica até seu rompimento, e do gráfico de tensão vs deformação também podemos verificar que todas as curvas das amostras recobertas com filmes de prata estão abaixo das curvas do polímero sem tratamento e tratado com filmes de DLC. Portanto, seu limite de resistência à tração (σ_{UTS}) e módulo de tenacidade (U_T) apresentam diferença estatística em relação à tela sem tratamento, como mostrado nas Figuras 56 e 57.

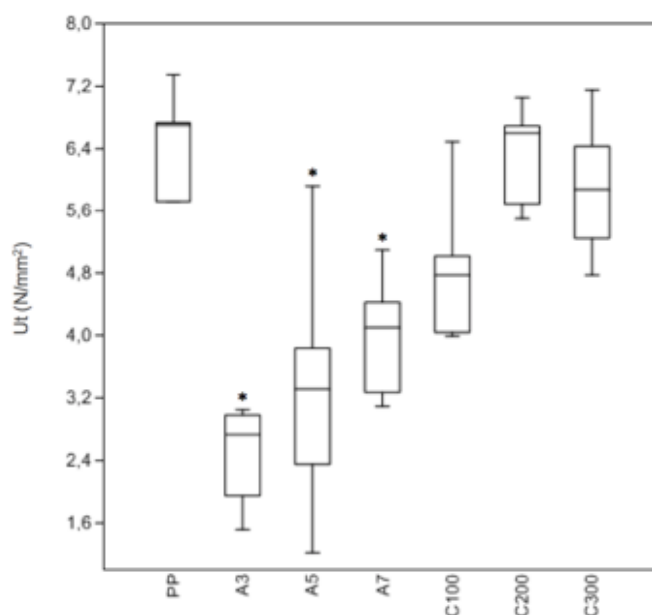


Figura 56. Módulo de tenacidade para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.

A deposição dos filmes finos de prata nas telas poliméricas de baixa densidade causaram a diminuição da tenacidade do material, ou seja, sua capacidade de absorver energia até o rompimento. Estes implantes estão sujeitos a pressão intra-abdominal ao se realizar exercícios físicos, espirrar e tossir. Em estudos Cobb et al. [270] identificou uma pressão máxima de 22,7 kPa (171 mmHg) para diferentes situações físicas, portanto, para materiais sujeitos a pressão e impacto, a tenacidade é uma propriedade extremamente importante.

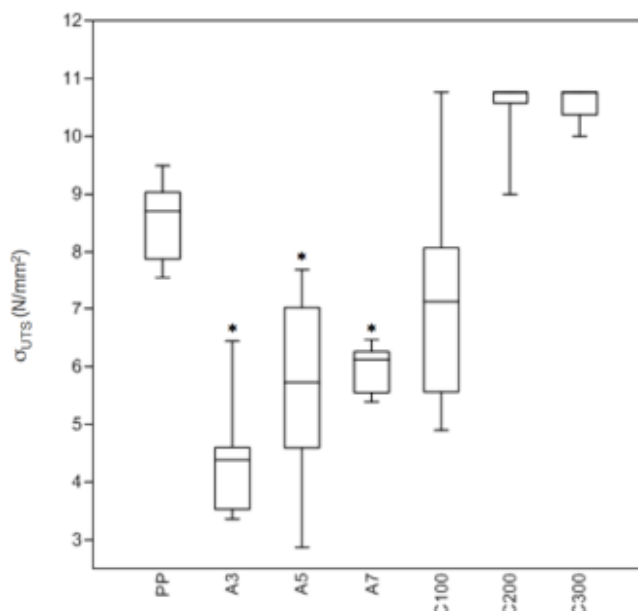


Figura 57. Limite de resistência à tração para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.

O limite de resistência à tração das amostras também diminuiu para o revestimento com filmes de prata, portanto, as propriedades mecânicas das telas de baixa densidade tratadas com os nanofilmes de prata foram comprometidas.

O módulo de resiliência (U_r) consiste na capacidade de um material absorver energia quando é deformado elasticamente, e após o descarregamento, recuperar essa energia. Todas as amostras de tela revestidas, com exceção da amostra A3, apresentaram valores menores de resiliência em relação à tela polimérica sem tratamento como mostrado na Figura 58. Este resultado indica que o processamento a plasma nas telas de baixa densidade levam a uma menor resiliência do implante, ou seja, a capacidade do material absorver energia antes de se deformar plasticamente.

A deformação plástica do material vista do ponto de vista atômico ocorre devido à ruptura de ligações com os átomos vizinhos, seguida da formação de novas ligações e reposicionamento relativo entre os átomos. Então mesmo que a tensão causadora da deformação seja removida, os átomos não retornarão às suas posições originais, o que não é desejável para materiais poliméricos utilizados como implantes em diversas aplicações médicas.

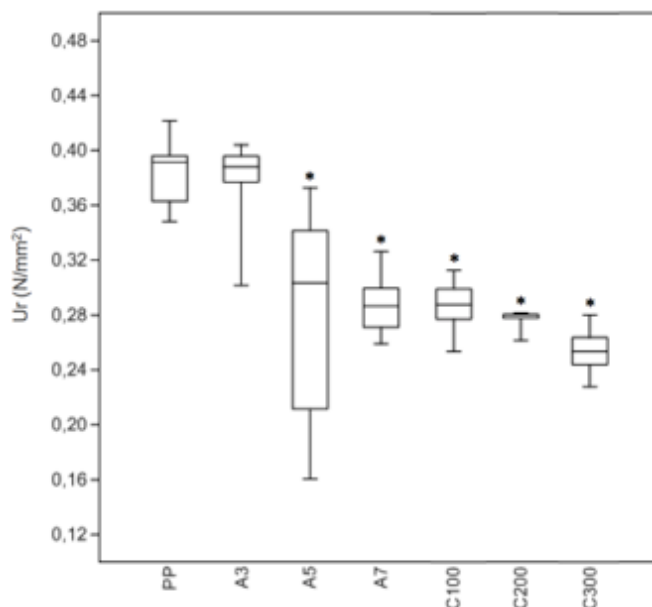


Figura 58. Módulo de resiliência para as telas de baixa densidade. * p valor < 0,05.

A Figura 59 mostra a tela de alta densidade antes e após a realização do ensaio de tração, na qual é possível observar que ocorre falha mecânica devido a deformação plástica das fibras, mas em função da sua conformação têxtil não ocorre o rompimento da peça. Já a tela de baixa densidade teve maior alongamento da amostra com rompimento das fibras poliméricas constituintes da malha, como pode ser visualizado na Figura 60.

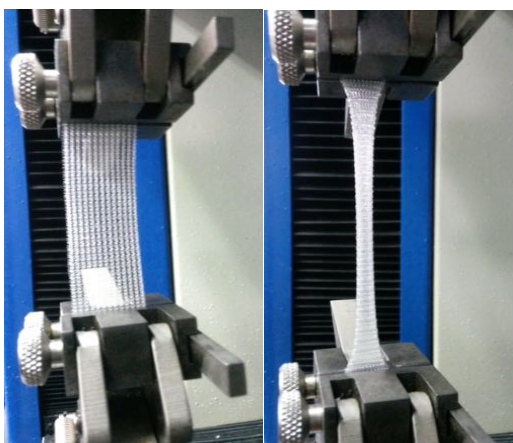


Figura 59. Tela de alta densidade antes e depois do ensaio de tração.

As telas que apresentam direção preferencial de seu entrelaçamento geralmente são anisotrópicas e sua orientação correta é fundamental para garantir a compatibilidade biomecânica do implante com a parede abdominal sob cargas intra-abdominais. Apesar dos

potenciais efeitos adversos da fixação da tela no organismo numa orientação incorreta, poucas investigações sobre o comportamento anisotrópico dos implantes comumente utilizados nos últimos 50 anos não estão presentes na literatura [271, 272].

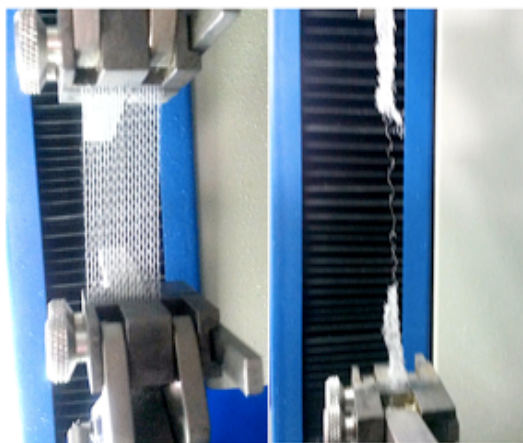


Figura 60. Tela de baixa densidade antes e depois do ensaio de tração.

Pode-se concluir que existe a necessidade de se caracterizar a tela em termos do material, estrutura e orientação, de modo a combinar o comportamento biomecânico da parede abdominal. As telas sintéticas com diferentes propriedades mecânicas são tratadas como uniformes e intercambiáveis, porém, a compreensão dessas propriedades para identificação do implante mais apropriado para cada paciente juntamente com a implantação em uma posição apropriada é extremamente importante. À vista disso, é possível evitar a falta de correspondência mecânica implante-tecido melhorando sua fixação e permitindo portanto sua integração otimizada no tecido hospedeiro [273, 274].

4.2 Caracterização biológica

Estudos do comportamento celular *in vitro* sobre a superfície de diferentes biomateriais são normalmente efetuados como uma triagem inicial da biocompatibilidade, reduzindo substancialmente a necessidade de ensaios *in vivo*, devido à diminuição do número de materiais com potencial para aplicabilidade clínica [275].

A caracterização biológica de um dispositivo médico possibilita a correlação dos parâmetros físico-químicos com a resposta celular, onde a avaliação *in vitro* da biocompatibilidade das telas cirúrgicas revestidas com nanofilmes de DLC e prata foi realizada pelo teste de citotoxicidade em cultivo celular e sua potencial atividade antibiofilme investigada com cepas bacterianas e fúngica.

4.2.1 Avaliação da Citotoxicidade

Materiais médicos podem apresentar efeito tóxico para as células como alterações na permeabilidade da membrana, inibição enzimática e a morte celular. A citotoxicidade pode ser definida, portanto, como qualquer agente ou processo que cause efeito tóxico a nível celular [276]. A análise *in vitro* da citotoxicidade das telas sintéticas de uso cirúrgico usando o método colorimétrico MTT, avalia a capacidade das células viáveis de converter o sal MTT em cristais de formazan de coloração púrpura [277], como mostrado na Figura 61.

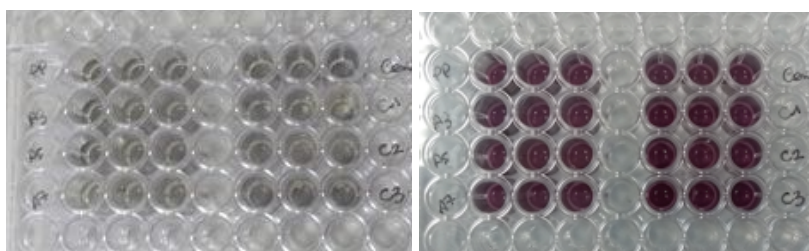


Figura 61. Foto do ensaio MTT de citotoxicidade evidenciando a mudança de coloração.

Os percentuais de viabilidade celular podem ser classificados como não citotóxico (>90% de viabilidade celular), levemente citotóxico (80-89% de viabilidade celular) moderadamente citotóxico (50-79% de viabilidade celular) e severamente citotóxico (<50% de viabilidade celular) [278]. A porcentagem da atividade celular apresentada na Figura 62 foi calculada considerando o controle negativo como 100% de viabilidade celular.

Para a regulamentação de dispositivos médicos, o ensaio de citotoxicidade é parte da avaliação da biocompatibilidade, no qual métodos de teste específicos são escolhidos com base nas características tecnológicas e uso pretendido de um dispositivo. A análise estatística da viabilidade celular para as telas poliméricas não mostrou diferença entre os grupos controle, referente aos poços sem amostras, e o tratamento contendo os grupos PP da tela pura e as amostras recobertas com nanofilmes de DLC e prata. Esse resultado confirma a não toxicidade das amostras em nível celular.

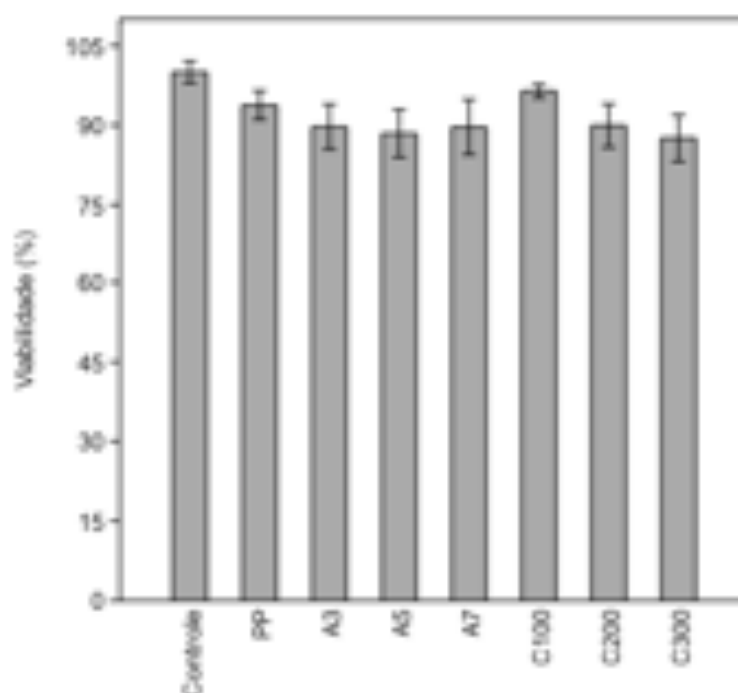


Figura 62. Comparação da viabilidade celular (%) por MTT.

Estudos de citotoxicidade a partir do contato direto e do extrato de nanofilmes de prata depositados via *magnetron sputtering* apresentaram alta viabilidade celular para os extratos e redução significativa para o contato direto. Numerosos estudos publicados de dispositivos médicos revestidos com prata apresentaram prevenção de infecções mas também potencial citotóxico [103].

Esses resultados destacam o valor do teste de citotoxicidade por contato direto na predição de interações biológicas com células e tecidos. Ao contrário dos materiais revestidos com prata relatados na literatura [103, 187, 188] o presente estudo não demonstrou citotoxicidade dos nanofilmes de prata por contato direto possivelmente devido a uma menor espessura dos filmes, menor concentração e formação de nanoestruturas.

A caracterização físico-química minuciosa do material é indiscutivelmente necessária

para a compreensão dos fatores relevantes na interação dos nanofilmes com entidades biológicas, já que diferentes métodos e parâmetros de fabricação influenciam diretamente nas características da superfície dos dispositivos médicos que, em última análise, determinam a sua biocompatibilidade.

4.2.2 Aderência microbiana

Infecções por fungos do gênero *Candida* vêm aumentando consideravelmente nas últimas décadas principalmente em indivíduos imunocomprometidos [278, 279], causando desde infecções superficiais de pele até infecções sistêmicas que ameaçam a vida [280]. Na Figura 63 verifica-se que a colonização por *Candida albicans* nas telas sintéticas mostra diferença estatística somente para as amostras revestidas com nanofilmes de DLC.

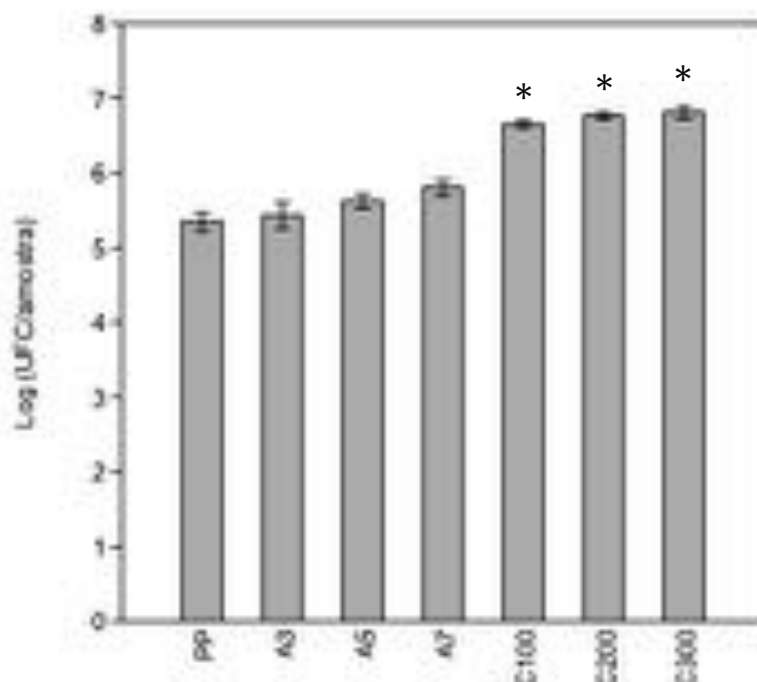


Figura 63. Log UFC/amostra para *Candida albicans*. * p valor < 0,0005.

Os filmes de DLC são revestimentos conhecidos como superfícies favoráveis a proliferação celular por sua alta biocompatibilidade, conseqüentemente estas amostras apresentaram valores elevados de UFC/amostra proporcionalmente ao aumento da espessura dos filmes e a maior disponibilidade de materiais carbonosos. *Candida albicans* é denominado fungo dimórfico porque prolifera na forma de fermento ou na forma de hifa,

onde a mudança morfológica é resultado de interações complexas de fatores externos e internos [282].

Os biofilmes se formam em um processo sequencial, incluindo aderência de células de levedura ao substrato, proliferação celular, formação de células de hifas na parte superior do biofilme, acumulação de matriz extracelular e, finalmente, dispersão de células do complexo de biofilme [279]. Nas imagens de MEV com aumentos progressivos de 500x, 1.000x e 5.000x apresentadas na Figura 64, supõe-se que formação do biofilme fúngico está em diferentes etapas de crescimento para as amostras revestidas com DLC em comparação com a tela polimérica sem processamento.

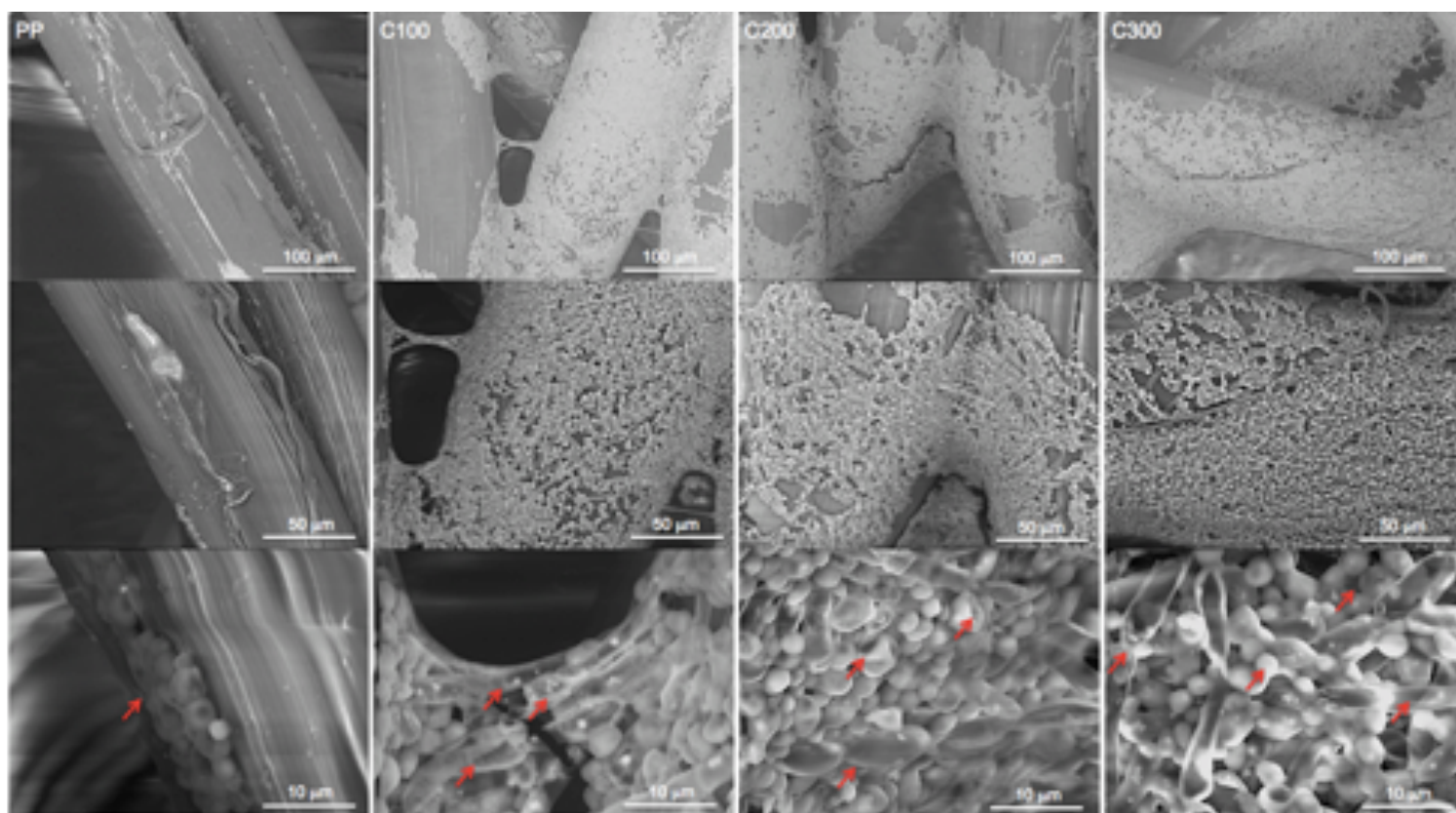


Figura 64. MEV da formação do biofilme de *Candida albicans* nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.

As células simples crescem por brotação assimétrica, formando colônias lisas e redondas como indicado pelas setas na primeira coluna referente a tela de polipropileno pura. A superfície hidrofóbica do polímero evita a fixação microbiana na superfície, porém, os processos hidrolíticos e a secreção de enzimas específicas que facilitam a penetração ativa de células acarretam na formação de sulcos nas fibras, disponibilizando os monômeros

poliméricos que atuam como fonte de carbono para o crescimento do microrganismo [279], levando assim à degradação do implante.

Das micrografias também foi verificado que os nós entre as fibras da tela constituem um ambiente favorável ao desenvolvimento microbiano, sendo o local preferencial da aderência microbiana inicial levando a posterior dispersão e colonização do implante. As células de levedura induzem a formação de hifas a partir da evaginação celular e o alongamento de um tubo germinativo contínuo [282], característico do estado inicial do desenvolvimento do biofilme como demarcado pelas setas na segunda coluna (amostra C100). A divisão nuclear ocorre entre a célula mãe e filha onde o núcleo migra para o tubo germinal que se prolonga e se divide, em seguida, um núcleo migra para a célula mãe e o outro se move para a ponta do tubo germinativo alongado. Este movimento complexo do núcleo durante as etapas iniciais do desenvolvimento de hifas é orquestrado por microtúbulos [283].

As células de levedura e hifas não são os únicos estados morfológicos que ocorrem naturalmente no biofilme de *C. albicans*, também podemos encontrar células brancas de forma ovoide atribuídas a leveduras em brotação e células opacas que geram colônias cinzentas com células maiores e alongadas, sugerindo que estas podem representar um fenótipo intermediário entre as formas de levedura e hifa [283, 284].

Também são encontrados padrões de crescimento que envolvem alongamento celular extensivo sem a formação de hifas verdadeiras, denominada de forma pseudo-hifática. Seu crescimento implica na formação de células alongadas que permanecem em cadeias mas são separadas por constricções [283] coexistindo com outras morfologias durante infecções [282]. Os processos de diferenciação a partir da evaginação celular e formação de pseudo-hifas estão indicados na terceira coluna para a amostra C200.

Já para a amostra C300 foi constatada a presença de todas as morfologias celulares descritas previamente com uma maior quantidade de hifas, que são elementos essenciais para proporcionar integridade estrutural e arquitetura multicamada característica de biofilmes maduros/totalmente desenvolvidos [285]. Esta amostra sugere alta virulência do biofilme devido ao crescimento do repertório completo de formas morfológicas: leveduras, células brancas, células opacas, pseudo-hifas e hifas verdadeiras (indicado pelas setas).

As hifas são estruturas mais invasivas que conseguem escapar das células fagocíticas e as células de levedura podem se disseminar na corrente sanguínea, portanto, a morfologia celular contribui para a sobrevivência de *C. albicans* no hospedeiro [282]. A plasticidade morfológica é um componente crítico da virulência do patógeno fúngico *C. albicans*, onde o contato com uma superfície é um fator determinante para adesão celular, desencadeamento da

formação de hifas e desenvolvimento do biofilme [279]. A compreensão detalhada dos papéis das formas morfológicas encontradas e como são reguladas pode proporcionar informações importantes sobre as estratégias de controle desse patógeno.

A formação de biofilme de *Staphylococcus aureus* nas telas de polipropileno é apresentado na Figura 65. O bactéria Gram-positiva *S. aureus* representa de 53 a 75% de todos os casos de infecção de telas cirúrgicas, onde 63% das cepas isoladas são resistentes à meticilina (MRSA) [286].

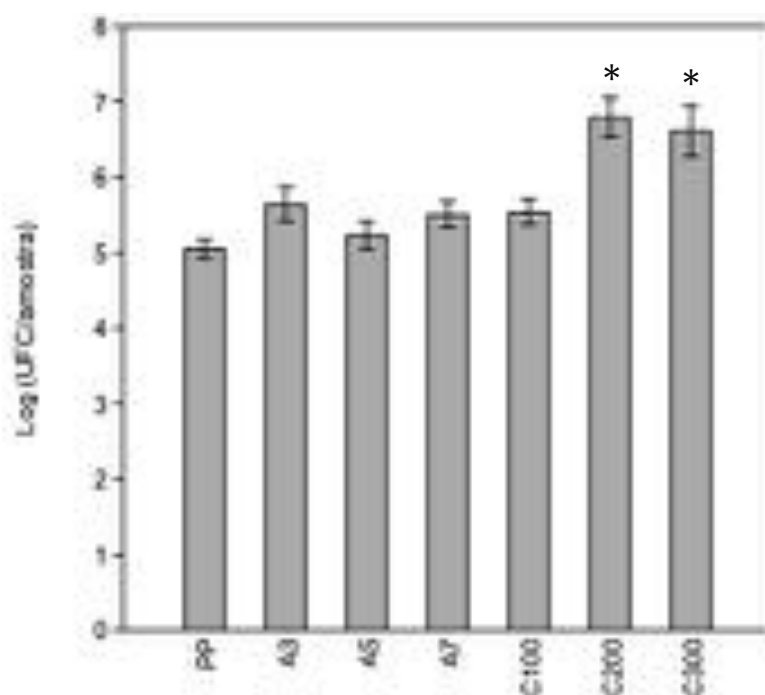


Figura 65. Log UFC/amostra para *Staphylococcus aureus*. * p valor < 0,05.

Novamente os resultados mostram diferença significativa na formação de biofilme bacteriano nas amostras de tela recobertas com nanofilmes de DLC (amostras C200 e C300). Porém, diferente do biofilme fúngico, o fator determinante na interação das superfícies com a bactéria Gram-positiva não aparenta ser a espessura dos filmes e sim a proporção das ligações sp^3 do carbono amorfo tipo diamante.

O DLC é uma classe de materiais em que sua estrutura e ligações químicas influenciam diretamente na adesão bacteriana [287, 288]. O desempenho antibacteriano do DLC foi relacionado a vários mecanismos, e está principalmente associado aos danos físicos do contato direto com o material causando comprometimento da membrana e liberação de metabolitos intracelulares [289].

A amostra C100 foi o material sintetizado que apresentou maior quantidade de

ligações sp^3 na matriz carbonosa, o que pode dificultar a adesão bacteriana e a subsequente colonização da superfície. Este resultado está de acordo com trabalhos da literatura que identificaram alta atividade antibacteriana para filmes com diferentes conteúdos de ligações sp^3 [289, 290]. Como visualizado nas análises de AFM, esta amostra também não apresentou a formação de um filme uniforme, onde a exposição de regiões do substrato polimérico também pode dificultar a formação do biofilme.

As imagens de MEV com aumentos progressivos de 500x, 1.000x e 5.000x apresentadas na Figura 66 evidenciam as diferenças na colonização microbiana de *S. aureus* na superfície das telas.

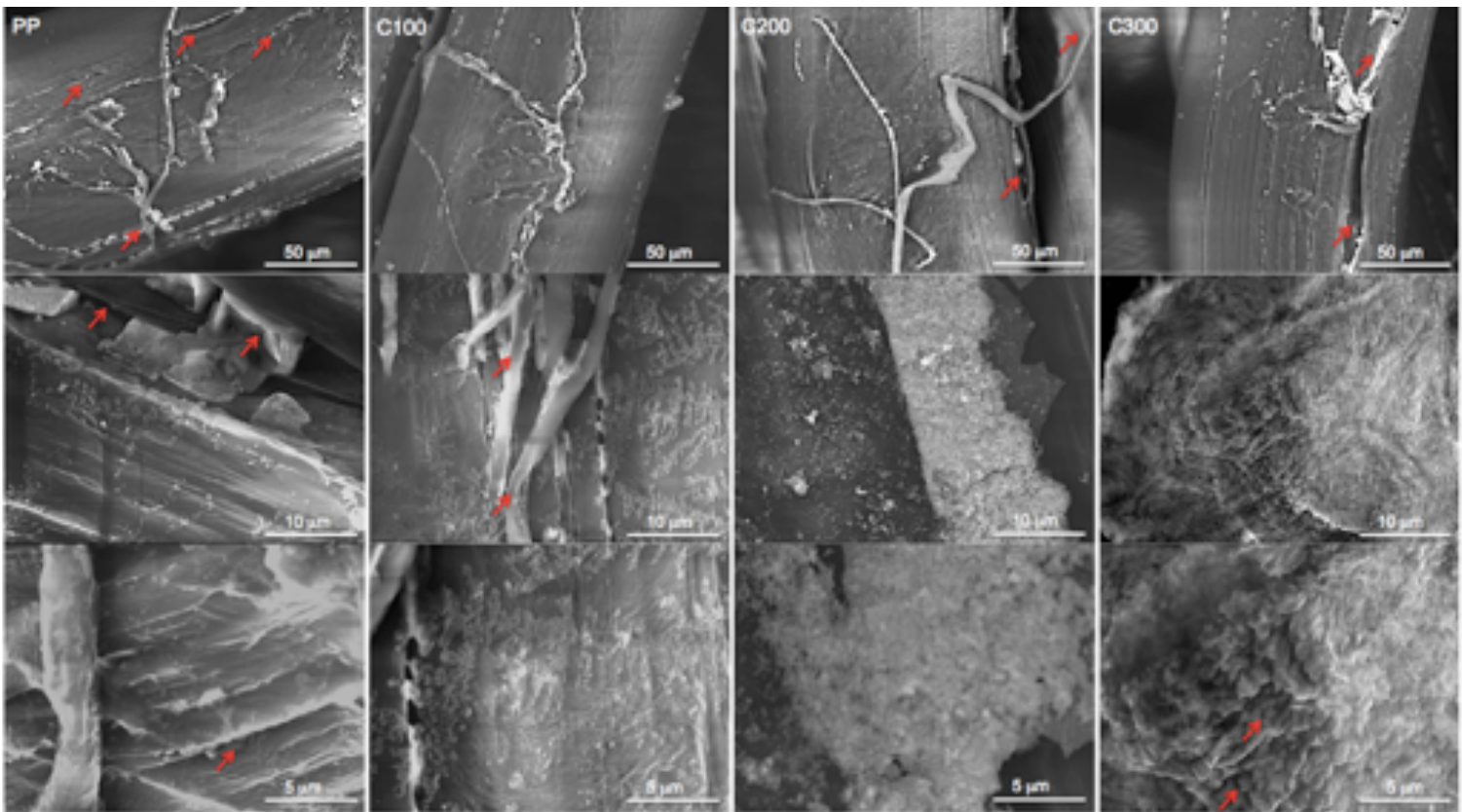


Figura 66. MEV da formação do biofilme de *Staphylococcus aureus* nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.

Nas micrografias da tela sem tratamento (primeira coluna) pode-se identificar a etapa inicial da formação de biofilme por *S. aureus* com a adesão e multiplicação celular em um "gramado" confluyente. As setas estão indicando a alta infiltração de entidades biológicas nas fibras do polímero conduzindo a degradação e falha futura.

Para a amostra C100 (segunda coluna) observa-se uma menor infiltração do substrato

polimérico, e a formação de estruturas tubulares induzidas por *S. aureus* indicadas pelas setas. Estas estruturas surgem devido à presença de nuclease estafilocócica, que ocupa um papel importante na reparação da molécula de DNA eliminando nucleotídeos danificados ou incompatíveis, que resultam de erros durante os processos de replicação e duplicação [291]. Tais alterações no DNA bacteriano possivelmente ocorrem devido à presença de estruturas do tipo diamante (ligações sp^3), gerando assim a formação de estruturas tubulares como mecanismo de defesa para evitar a destruição celular.

Já a amostra C200 mostrou um biofilme com células de *Staphylococcus aureus* apagadas por matriz robusta de polímero extracelular que proporciona a colonização do biofilme na superfície da fibra, e para a amostra C300 observa-se uma estrutura de biofilme maduro com grandes quantidades de células de coccoides embutidas na matriz extracelular. O crescimento de biofilmes nas amostras C200 e C300 também leva à infiltração e destruição das fibras poliméricas como indicado nas setas.

Como as infecções protéticas são em grande maioria causadas por *S. aureus*, a fabricação de telas de polipropileno revestidas com nanofilmes de DLC com alto teor de ligações sp^3 pode levar ao sucesso do implante *in vivo* devido ao efeito direto na prevenção dessas infecções.

Apesar do revestimento do implante com nanofilmes de prata não ter diminuído a colonização do material em relação ao polímero puro, as imagens de MEV dessas amostras apresentadas na Figura 67 apontam menor quantidade de fissuras correlacionadas a infiltração e degradação do polipropileno. Portanto, a deposição de revestimentos nanométricos nas telas de polipropileno de uso cirúrgico pode diminuir a degradação e falha do material em ambientes biológicos.

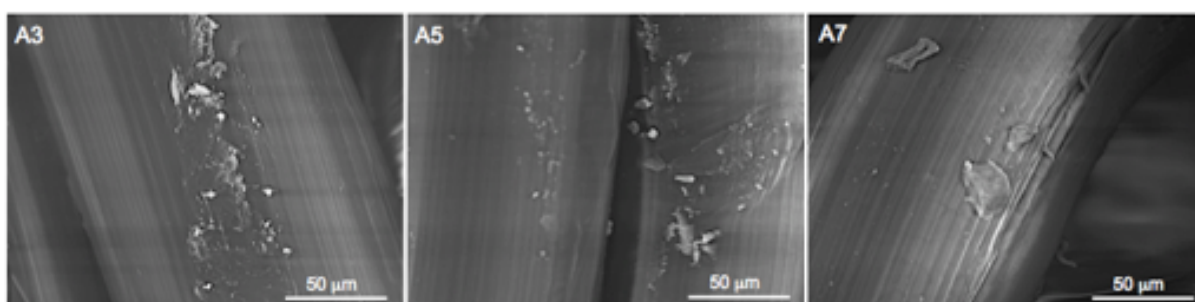


Figura 67. MEV 500x da formação do biofilme de *Staphylococcus aureus* nas telas revestidas com nanofilmes de prata.

A formação do biofilme de *Escherichia coli* nas telas sintéticas, apresentado na Figura 68, mostra um aumento significativo nas contagens de UFC/amostra chegando a

aproximadamente 10^8 UFC para a amostra C200. A concentração elevada de colônias presente na superfície das telas indica maior dificuldade na inibição desse microrganismo devido a complexidade de sua parede celular.

A amostra C200 possui grande quantidade de ligações duplas de espécies oxidativas do carbono na superfície e maior energia de superfície e maior energia de superfície, o que parece ser um fator determinante para a proliferação de colônias de *E. coli* no biomaterial. A maior hidrofiliabilidade e energia superficial proporcionam superfícies favoráveis a adesão e proliferação celular, e a presença de duplas ligações do carbono contribui na remoção de radicais de superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que está relacionado a interações celulares desfavoráveis [226].

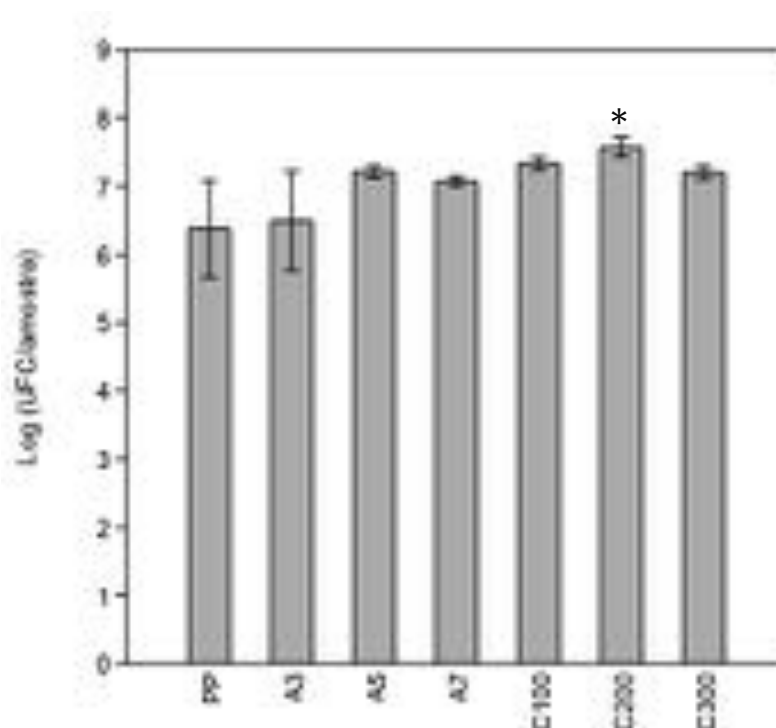


Figura 68. Log UFC/amostra para *Escherichia coli*. * p valor < 0,01.

Na Figura 69 são apresentadas as imagens de MEV com aumentos progressivos de 500x, 1.000x e 5.000x das telas cirúrgicas infectadas com a bactéria Gram-negativa. As micrografias mostram um grande número de anexos bacterianos iniciais e uma maior colonização das fibras poliméricas em relação a bactéria Gram-positiva estudada anteriormente. Novamente, a formação de biofilme na tela de polipropileno induz a formação de sulcos e a infiltração no material (indicado pelas setas) em comparação com as amostras revestidas com nanofilmes de DLC, amostra C100 e C300 apresentadas na coluna dois e quatro, respectivamente. Essas amostras apresentaram arquitetura bidimensional do biofilme com formação reduzida de matriz extracelular, sugerindo que essas superfícies possuem a

capacidade de inibir a formação de biofilmes maduros de *E. coli in vitro*.

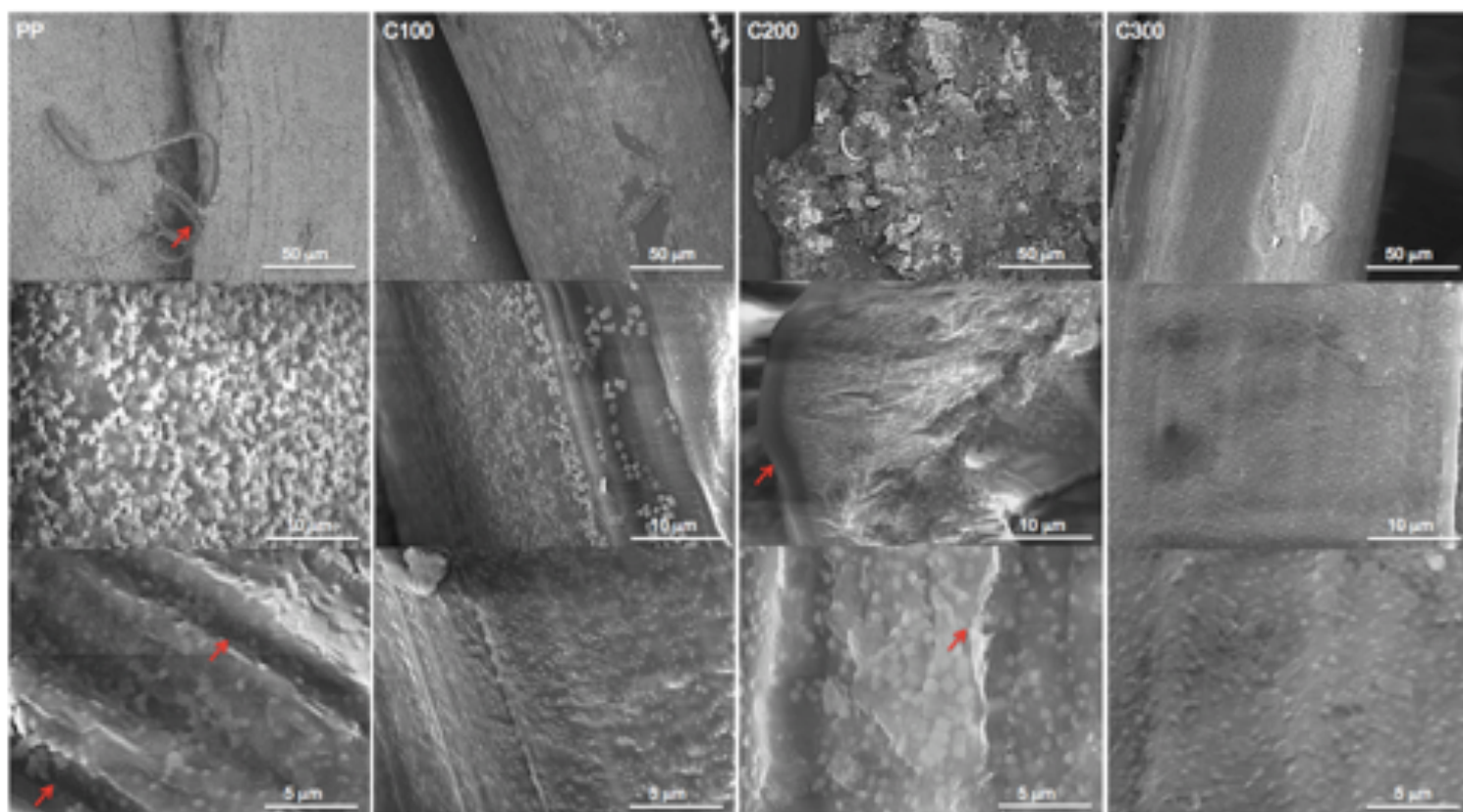


Figura 69. MEV da formação do biofilme de *Escherichia coli* nas telas sem processamento (PP) e revestidas com nanofilmes de DLC.

A maturação do biofilme corresponde ao seu crescimento tridimensional que ocorre após a ligação inicial à superfície, principalmente devido às interações bactérias-bactérias graças à formação de uma matriz extracelular espessa, como observado na amostra C200 [292]. A interação celular com essa superfície promove uma resposta adaptativa nas células de *E. coli* levando a uma maior adesão e formação de um biofilme estável. Este crescimento tridimensional, indicado nas setas, favorece o desmebramento de colônias da superfície do material e a disseminação da infecção para outros locais.

As amostras revestidas com nanofilmes de prata, Figura 70, também apresentam uma maior integridade das fibras de PP, onde o revestimento evita a infiltração celular e degradação do implante mas não inibe de fato a colonização superficial. O estudo da colonização e formação de biofilmes em superfícies representa um campo de investigação que se expande rapidamente, onde a compreensão da complexidade dos fenômenos envolvidos no contato superficial e crescimento da comunidade são importantes para concepção de novas estratégias de síntese e modificação de materiais com propriedades antibiofilme.

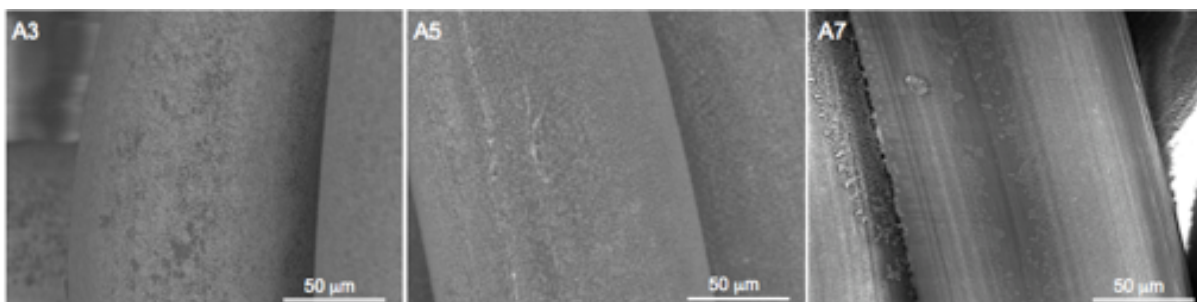


Figura 70. MEV 500x da formação do biofilme de *Escherichia coli* nas telas revestidas com nanofilmes de prata.

Os valores de UFC por amostra para os ensaios de formação de biofilme dos microrganismos *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* nas telas sem processamento e revestidas com nanofilmes de DLC e prata se encontram no Apêndice. Em resumo, os resultados *in vitro* para as amostras de tela revestidas com nanofilmes de DLC mostraram que o fator determinante na proliferação microbiana está relacionado a diferentes parâmetros físico-químicos e topográficos para cada microrganismo estudado. Na literatura também foi relatado que o mecanismo de inibição de filmes de DLC pode variar conforme a espécie microbiana [289], o que possibilita o controle de suas propriedades a partir da síntese para atingir ação específica contra determinado microrganismo.

A rugosidade dos nanofilmes depositados na tela de polipropileno e tamanho das estruturas presentes na superfície para não apresentaram efeito decisivo sobre o desempenho antibiofilme das amostras estudadas, porém, o recobrimento uniforme da superfície das amostras correlaciona-se com o crescimento celular. De acordo com Zhou et al. [293], dentre vários parâmetros interfaciais dos materiais, a composição química da superfície e a rugosidade são determinantes nas interações implante-bactérias. Uma superfície rugosa tem uma área de superfície maior, o que aumenta a possibilidade de contato e colonização de bactérias [293-295]. Contudo, Flint et al. [296] mostraram que a rugosidade da superfície somente tem efeito sobre a adesão e aprisionamento das bactérias quando se aproxima do tamanho das células ($\sim 1,0 \mu\text{m}$), o que está muito acima dos valores de Rz e Rms dos filmes sintetizados neste trabalho.

Do ponto de vista físico-químico, a adesão microbiana a uma superfície é determinada por interações eletrostáticas e hidrofóbicas/hidrofílicas. Os resultados da colonização de biofilmes para os diferentes microrganismos testados não mostraram diferença estatística para as amostras de tela pura e revestidas com nanofilmes de prata. O que pode estar relacionado com os valores de baixa energia de superfície e elevado ângulo de contato muito próximos

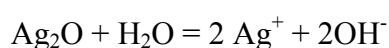
apresentando, portanto, com inibição equivalente na formação de biofilmes para o polímero puro e com nanofilmes de Ag. Tais propriedades são consideradas antiadesivas, o que leva à dificuldade de fixação de bactérias na superfície que, portanto, não são capazes de formar colônias sobre o material [290].

Apesar da prata ser um agente antimicrobiano bem conhecido e ter um amplo espectro de atividade, seu mecanismo de ação não é totalmente compreendido. No entanto, sugere-se que o comportamento antimicrobiano da prata pode ser alcançado através da liberação de íons Ag^+ , da interação de nanopartículas de prata com bactérias e da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) [251].

A morfologia da prata (nanopartículas, aglomerados ou filmes) parece influenciar na sua eficiência antibacteriana, o que em muitos casos correlaciona-se com as mudanças na ionização da prata. As nanopartículas tendem a ionizar mais facilmente e interagir diretamente com as bactérias promovendo a sua destruição quando comparado com um filme compacto [251]. Também foi proposto que as nanopartículas de prata geram mais ROS do que íons de prata [297], o que significa que as características morfológicas da prata também determinam a produção de ROS, porém, o processo de liberação de Ag^+ é a principal causa de formação de ROS [298]. A presença dessa espécie está relacionada ao comportamento antibacteriano da prata.

Rebello et al. [299] mostraram que em filmes finos de prata a ionização da prata é insuficiente ou inexistente e, conseqüentemente, nenhuma atividade antimicrobiana foi observada. Outros resultados [251] sugeriram que a formação de espécies reativas de oxigênio poderia ser o motivo principal na obtenção de propriedades antibacterianas, uma vez que revestimentos de óxido de prata apresentaram atividade antibacteriana ao contrário de revestimentos uniformes de prata.

Ninganagouda et al. [300] demonstraram que as nanopartículas de Ag em contato com bactérias inibiram seu crescimento devido à formação de ROS, e quando foi adicionado um antioxidante às nanopartículas de Ag o comportamento antibacteriano não foi observado. Além disso, como demonstrado por Ferreri et al. [301], a incorporação de prata oxidada em revestimentos pode inibir o crescimento bacteriano, pois permite a síntese de OH^- em ambientes aquosos de acordo com a reação:



Logo, é possível melhorar as características antimicrobianas dos nanofilmes de prata formando espécies reativas de oxigênio na superfície visando uma ação mais efetiva devido ao caráter tóxico dessas espécies para as células bacterianas. O melhoramento do efeito antimicrobiano também pode ser alcançado aumentando a espessura dos filmes finos para haver maior disposição de material para ionização e liberação da superfície, contudo, os ensaios antimicrobianos e estudos de toxicidade devem ser sempre realizados para inserção da ação contra microrganismos sem comprometer a biocompatibilidade do material.

O polipropileno por ser um material hidrofóbico e quimicamente inerte, pode dificultar a adesão inicial e a subsequente colonização por microrganismos, no entanto, estas mesmas características podem conduzir a interações fracas com células, sangue e tecidos, e reações adversas como inflamação, coagulação e reação de corpo estranho [94].

Consequentemente, uma superfície quimicamente ativa pode ser útil na implantação do dispositivo onde a interação do material com células é favorecida por superfícies ativadas, aumentando sua biocompatibilidade. Uma superfície quimicamente ativa também tem a capacidade de reagir e estabelecer ligações químicas com biomoléculas no ambiente circundante [245], o que levaria a uma melhor biointegração das telas revestidas com nanofilmes de prata e DLC em relação ao polímero puro.

A ausência de efeito antibiofilme das amostras revestidas pode não ser um problema *in vivo*, onde a presença de superfícies bioativas ajudam na formação de um filme biológico natural na superfície do implante, impedindo que os microrganismos se fixem permanentemente [209]. Conjuntamente, a modificação superficial do implante com nanofilmes de DLC e prata pode limitar danos aos tecidos circundantes advindos de uma intensa resposta imunológica, porém sem efeito direto na prevenção ou cura da infecção.

Também é importante destacar que na literatura são encontrados poucos trabalhos a respeito da modificação superficial de telas de polipropileno por *magnetron sputtering*, sendo um deles de autoria própria [302] sobre a ação antimicrobiana e antibiofilme de revestimentos de Me-DLC com diferentes metais. Já Cohen et al. [303] estudaram somente a ação antimicrobiana por ensaios de difusão de telas revestidas com prata nanocristalina, e Muzio et al. [304] além da ação antimicrobiana estudaram a biocompatibilidade dos revestimentos de Ag/SiO₂.

Ainda com a publicação dos trabalhos acima citados, nenhum dos estudos realizaram uma investigação sistemática das propriedades mecânicas e físico-químicas do implante processado, concomitantemente, não há nenhum relato sobre a deposição de nanofilmes de DLC na superfície de telas cirúrgicas.

5 Considerações Finais

As propriedades de superfície são fatores importantes na concepção de dispositivos médicos, onde a topografia, composição, energia superficial e molhabilidade são as propriedades consideradas mais importantes. As propriedades da superfície afetam os processos de adesão, distribuição, proliferação e diferenciação celular. Apesar do tratamento das telas de polipropileno por *magnetron sputtering* ser um processo superficial, a modificação de propriedades mecânicas e de adesão microbiana nas fibras indicam que o melhoramento de implantes poliméricos não é algo trivial.

Todas as amostras estudadas foram revestidas com filmes finos de até 20 nm de espessura, denominados nanofilmes, o que acarreta dificuldade na caracterização do material e quando sintetizados na superfície de materiais poliméricos, une-se a outra problemática referente à sua degradação devido a utilização de técnicas que aplicam altas fontes de energia.

O estudo sistemático das propriedades físico-químicas é extremamente importante para o entendimento dos processos envolvidos na interação dos nanofilmes com sistemas biológicos. Das análises de AFM e MEV é possível observar a modificação superficial do polipropileno, a dinâmica de crescimento dos nanofilmes e suas respectivas diferenças topográficas. A variação na morfologia e na distribuição de estruturas na superfície das telas está diretamente relacionada com a potência aplicada para a deposição dos nanofilmes.

Os grupos funcionais presentes no material foram verificados por FT-IR e XPS, indicando o comprometimento das cadeias poliméricas da tela dependendo do parâmetro de processo utilizado, e a modificação na composição dos grupos químicos superficiais.

O polipropileno por ser um material hidrofóbico e quimicamente inerte, dificulta a adesão inicial e a subsequente colonização por microrganismos, no entanto, estas mesmas características conduzem a interações fracas com células, sangue e tecidos, e reações adversas como inflamação, coagulação e reação de corpo estranho. Propriedades equivalentes de molhabilidade e energia superficial foram encontradas para os nanofilmes de prata, levando aos mesmos resultados nos ensaios biológicos de adesão microbiana. A rugosidade na escala nanométrica das amostras depositados não apresentou efeito decisivo na aderência microbiana, e portanto, a característica mais importante na adesão e proliferação celular foi a energia de superfície.

Apesar dos revestimentos com nanofilmes de prata não terem diminuído a colonização de biofilmes fúngicos e bacterianos em relação ao polímero puro, os resultados sugerem uma

menor infiltração celular e degradação do substrato polimérico. A presença dos nanofilmes na superfície do implante promove a proteção do polímero, o que pode evitar a falha e necessidade de remoção do implante em ambientes biológicos.

As infecções protéticas são em grande maioria causadas por *Staphylococcus aureus* (até 75%), e de acordo com os resultados obtidos a fabricação de telas de polipropileno revestidas com nanofilmes de DLC com alto teor de ligações sp³ pode levar ao sucesso do implante *in vivo* devido ao efeito direto na prevenção dessas infecções. A maior energia superficial desses revestimentos também auxilia na cicatrização de feridas e no crescimento de tecido sugerindo assim uma melhoria na biointegração do implante.

O efeito antibiofilme equivalente das amostras revestidas em relação à tela não tratada pode não ser um problema *in vivo*, já que superfícies bioativas contribuem na formação mais rápida de um filme biológico natural na superfície do implante, impedindo que os microrganismos se fixem permanentemente. Conjuntamente, implantes com superfícies quimicamente ativas podem estabelecer ligações químicas com biomoléculas no ambiente circundante e limitar danos aos tecidos circundantes advindos de uma intensa resposta imunológica, o que levaria a uma melhor resposta *in vivo* das telas revestidas com nanofilmes de prata e DLC em relação ao polímero puro.

Estudos de citotoxicidade mostram alta viabilidade celular tanto para a tela de polipropileno sem processamento quanto para as amostras recobertas com nanofilmes de DLC e prata. Apesar da utilização frequente da prata para efeito antimicrobiano, muitas vezes seu papel potencialmente benéfico (biocompatibilidade/citotoxicidade) precisa ser ponderado contra seus potenciais danos aos microrganismos em uma avaliação de risco, o que muitas vezes não ocorre na literatura.

Este trabalho serve de base para futuras orientações na pesquisa do aperfeiçoamento dos materiais comerciais mais utilizados no reparo de hérnias a partir de modificações superficiais com nanofilmes de DLC e prata.

6 Conclusão

A partir do trabalho experimental realizado e dos resultados obtidos conclui-se que os parâmetros de deposição utilizados no revestimento de telas poliméricas de uso cirúrgico devem ser escolhidos com cautela buscando a inserção de efeito biológico adicional, como propriedades antimicrobianas e integração tecidual, simultaneamente com a manutenção das características estruturais do implante.

Também é possível inferir que a energia de superfície e a composição dos grupos químicos superficiais são as características mais importantes na aderência e proliferação celular no biomaterial. Deste modo, a confecção de superfícies bioativas em dispositivos médicos comerciais pode beneficiar no sucesso do implante, diminuição de gastos relativos à cirurgia e internação, e consequentemente no bem estar do paciente.

7 Trabalhos Futuros

Como trabalhos futuros são sugeridos os seguintes estudos:

- Síntese de nanofilmes de prata com maior quantidade de espécies oxidativas.
- Síntese de nanofilmes de DLC com diferentes quantidades de ligações sp^3 .
- Estudo sistemático de filmes finos com maior variação de espessura.
- Estudos de processos de nucleação de nanoestruturas.
- Síntese de nanofilmes por outras técnicas de deposição.
- Modificação superficial de diferentes biomateriais poliméricos.
- Análise *in vivo* dos implantes processados.

8 Referências Bibliográficas

- [1] KINGSNORTH, A. N. General Introduction and History of Hernia Surgery. In: KINGSNORTH A.; LEBLANC K. (Eds.). **Management of Abdominal Hernias**. London: Springer, 2013. p. 1-23.
- [2] HUEBSCH, N.; MOONEY, D. J. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. **Nature**, v. 462, n. 7272, p. 426-432, 2009.
- [3] BILSEL, Y.; ABCI, I. The search for ideal hernia repair: mesh materials and types. **International Journal of Surgery**, v. 10, n. 6, p. 317-32, 2012.
- [4] TODROS, S.; PAVAN, P. G.; NATALI, A. N. Synthetic surgical meshes used in abdominal wall surgery: Part I-materials and structural conformation. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, p. 689-699, 2017.
- [5] KALABA, S. et al. Design Strategies and Applications of Biomaterials and Devices for Hernia Repair. **Bioactive Materials**, v.1, n.1, p. 2-17, 2016.
- [6] PARK, J. B.; LAKES, R. S. **Biomaterials An Introduction**. 3 ed. New York: Springer, 2007. 562p.
- [7] ANDERSON, J. M.; ANALIZ, R.; DAVID, T. C. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86-100, 2008.
- [8] PÉREZ-KÖHLER, B.; BAYON, Y.; BELLÓN, J. M. Mesh Infection and Hernia Repair: A Review. **Surgical Infections**, v. 17, n. 2, p. 124-137, 2016.
- [9] LACKNER, J. M.; WALDHAUSER, W. Inorganic PVD and CVD Coatings in Medicine - A Review of Protein and Cell Adhesion on Coated Surfaces. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 24, p. 925-96, 2010.

- [10] SODHI, R. N. S. Application of surface analytical and modification techniques to biomaterials research. **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v. 81, p. 269, 1996.
- [11] <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>> Acesso em: 04 Jan. 2018.
- [12] BROWN, C. N.; FINCH, J. G. Which mesh for hernia repair? **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, v. 92, n. 4, p. 272-8, 2010.
- [13] GUILLAUME, O. et al. Infections associated with mesh repairs of abdominal wall hernias: Are antimicrobial biomaterials the longed-for solution? **Biomaterials**, v. 167, p. 15-31, 2018.
- [14] LONDONO, R.; BADYLAK, S. F. Factors Which Affect the Host Response to Biomaterials. In: BADYLAK, S. F. (Ed.). **Host Response to Biomaterials**. Oxford: Academic Press, 2015. p. 1-12.
- [15] BURGER, J. W. A. **Incisional Hernia: Etiology, Prevention, Treatment**. University Medical Center Rotterdam: Erasmus MC, 2006. 153p.
- [16] LEBLANC, K. A. Prostheses and Products for Hernioplasty. In: KINGSNORTH A.; LEBLANC K. (Eds.). **Management of Abdominal Hernias**. Springer: London, 2013. p. 103-150.
- [17] LUIJENDIJK R. W. et al. A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. **The New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 6, p. 392-8, 2000.
- [18] ANDERSON, J. M. et al. Host reactions to biomaterials and their evaluation. In: RATNER B. D. et al. (Ed.). **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. London: Elsevier, 2004. p. 293-305.
- [19] Conze, J.; Klinge, U.; Schumpelick, V. Hernias. In: HOLZHEIMER R. G.; MANNICK, J. A. (Eds.). **Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem-Oriented**. 2001. 843 p.

- [20] MAJUMDER A. Clinical Anatomy and Physiology of the Abdominal Wall. In: NOVITSKY Y. (Ed.). **Hernia Surgery**. Springer: Cham, 2016. p. 1-13.
- [21] PÉREZ-KÖHLER B. et al. Preclinical Bioassay of a Polypropylene Mesh for Hernia Repair Pretreated with Antibacterial Solutions of Chlorhexidine and Allicin: an *In Vivo* Study. **PLoS One**, v. 10, n. 11, 2015.
- [22] MATTHEWS R. D.; NEUMAYER, L. Inguinal hernia in the 21st century: an evidence-based review. **Current Problems in Surgery**, v. 45, n. 4, p. 261-312, 2008.
- [23] JUNGE K. et al. Damage to the Spermatic Cord by the Lichtenstein Procedure in a Pig Model-Preliminary Results. In: SCHUMPELICK V.; FITZGIBBONS R. J. (Eds.). **Hernia Repair Sequelae**. Springer: Berlin, Heidelberg, 2010. p. 21-28.
- [24] KALRA, T.; SONI, R. K.; SINHA, A. Comparing Early Outcomes using Non Absorbable Polypropylene Mesh and Partially Absorbable Composite Mesh through Laparoscopic Transabdominal Preperitoneal Repair of Inguinal Hernia. **Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR**, v. 11, n. 8, p. PC13-PC16, 2017.
- [25] RAMSHAW, B.; GRANT, S. Biology of Prosthetics. In: KINGSNORTH A.; LEBLANC K. (Eds.). **Management of Abdominal Hernias**, Springer: London, 2013. p. 151-158.
- [26] CODA, A.; LAMBERTI, R.; MARTORANA, S. Classification of prosthetics used in hernia repair based on weight and biomaterial. **Hernia**, v. 16, n. 1, p. 9-20, 2012.
- [27] BURGER, J. W. et al. Evaluation of new prosthetic meshes for ventral hernia repair. **Surgical Endoscopy**, v. 20, n. 8, p. 1320-5, 2006.
- [28] LAMBER, B. et al. Pode a tela de poliéster coberta com colágeno diminuir as taxas aderências intraperitoneais na correção de hérnia incisional? **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva - ABCD**, v. 26, n. 1, p. 13-7, 2013.
- [29] MIRMEHDI, I.; RAMSHAW, B. Synthetic Mesh: Making Educated Choices. In: NOVITSKY, Y. (Ed.). **Hernia Surgery**, Springer: Cham, 2016. p. 53-60.

- [30] TODROS, S. et al. Synthetic surgical meshes used in abdominal wall surgery: Part II - Biomechanical aspects. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 2017, v. 105B, p. 892-903, 2017.
- [31] SHANKARAN, V. et al. A review of available prosthetics for ventral hernia repair. **Annals of Surgery**, v. 253, p.16-26, 2011.
- [32] DEEKEN, C. R. et al. Physicomechanical evaluation of polypropylene, polyester, and polytetrafluoroethylene meshes for inguinal hernia repair. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 212, p. 68-79, 2011.
- [33] KLINGE, U. et al. Modified mesh for hernia repair that is adapted to the physiology of the abdominal wall. **European Journal of Surgery**, v. 164, p. 951-960, 1998.
- [34] WILLIAMS, J. F.; KIRKPATRICK, J.; SYME, G. A. Force measurement in the abdominal wall. **Biomedical Engineering**, v. 10, p. 181-183, 1975.
- [35] POTT, P. P. et al. Mechanical properties of mesh materials used for hernia repair and soft tissue augmentation. **PLoS One**, v. 7, p. e46978, 2012.
- [36] DEEKEN, C. R. et al. Physico-mechanical evaluation of polypropylene, polyester, and polytetrafluoroethylene meshes for inguinal hernia repair. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 212, p. 68-79, 2011.
- [37] KLOSTERHALFEN, B.; JUNGE, K.; KLINGE, U. The lightweight and large porous mesh concept for hernia repair. **Expert Review of Medical Devices**, v. 2, p. 103-117, 2005.
- [38] AHMED, M. S. et al. Properties of Meshes used in Hernia Repair: A Comprehensive Review of Synthetic and Biologic Meshes. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, v. 31, n. 2, p. 083-094, 2015.
- [39] BACHMAN, S.; RAMSHAW, B. Prosthetic material in ventral hernia repair: How do I choose? **Surgical Clinics of North America**, v. 88, p. 101-112, 2008.
- [40] BADYLAK, S. F. Decellularized allogeneic and xenogeneic tissue as a bioscaffold for

regenerative medicine: factors that influence the host response. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 42, n. 7, p. 1517-1527, 2014.

[41] ANDERSON, J. M.; RODRIGUEZ, A.; CHANG, D. T. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86-100, 2008.

[42] KLINGE, U. et al. Foreign body reaction to meshes used for the repair of abdominal wall hernias. **European Journal of Surgery**, v. 165, n. 7, p. 665–673, 1999.

[43] LEBER, G. E. et al. Long-term complications associated with prosthetic repair of incisional hernias. **Archives of Surgery**, v. 133, n. 4, p. 378–382, 1998.

[44] MORAIS, J. M.; PAPADIMITRAKOPOULOS, F.; BURGESS, D. J. Biomaterials/Tissue Interactions: Possible Solutions to Overcome Foreign Body Response. **The AAPS Journal**, v. 12, n. 2, p. 188-196, 2010.

[45] FERREIRA, P. et al. Improving polymeric surfaces for biomedical applications: a review. **Journal of Coatings Technology and Research**, v. 12, n. 463, 2015.

[46] CHANG, H-I.; WANG, Y. Cell Responses to Surface and Architecture of Tissue Engineering Scaffolds. In: EBERLI, D. (Ed.). **Regenerative Medicine and Tissue Engineering-Cells and Biomaterials**, InTech: Rijeka, 2011. p. 569-588.

[47] WANG, J.; ARASE, H. Regulation of immune responses by neutrophils. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1319, n. 1, p. 66-81, 2014.

[48] XIA, Y.; ZWEIER, J. L. Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. **National Academy of Sciences of the United States of America – PNAS**, v. 94, p. 6954-6958, 1997.

[49] SIES, H.; GROOT, H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. **Toxicology Letters**, v. 64/65, p. 547-551, 1992.

[50] WANG, D. et al. Sox10⁺ adult stem cells contribute to biomaterial encapsulation and microvascularization. **Scientific Reports**, v. 7, n. 40295, 2017.

- [51] BÉLLÓN, J. M. et al. Evaluation of the acute scarring response to the implant of different types of biomaterials in the abdominal wall. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 11, p. 25-29, 2000.
- [52] ANDERSON, J. M. Inflammatory response to implants. **ASAIO Transactions**, v. 34, n. 2, p. 101-107, 1988.
- [53] WILLIAMS, D. F. Definitions in Biomaterial. **Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition**, v. 26, n. 9, p. 414-414, 1987.
- [54] ANDERSON, J. M. Biological responses to materials. **Annual Review of Materials Research**, v. 31, p. 81-110, 2001.
- [55] BRYERS, J. D. Medical biofilms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, n. 1, p. 1-18, 2008.
- [56] HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 2, p. 95-108, 2004.
- [57] BROOKS, B. D.; BROOKS, A. E.; GRAINGER, D. W. Antimicrobial Medical Devices in Preclinical Development and Clinical Use. In: MORIARTY, T.; ZAAT, S.; BUSSCHER, H. (Eds.). **Biomaterials Associated Infection**, Springer: New York, 2013. p. 307-354.
- [58] MARSHALL, K. C. Mechanisms of bacterial adhesions at solid-water interfaces. In: SAVAGE, D. C.; FLETCHER, M. (Eds.). **Bacterial adhesion: Mechanisms and physiological significance**, Plenum Press: New York, 1985. p. 133-161.
- [59] KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. **European Cells & Materials**, v. 8, p. 37-57, 2004.
- [60] DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, p. 167-193, 2002.

- [61] FRANCOLINI, I. et al. Antifouling and antimicrobial biomaterials: an overview. **APMIS**, v. 125, p. 392-417, 2017.
- [62] DONGARI-BAGTZOGLU, A. Pathogenesis of mucosal biofilm infections: challenges and progress. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 6, n. 2, p. 201-208, 2008.
- [63] NIKOLAEVAND, Y. A.; PLAKUNOV, V. K. Biofilm - 'city of microbes' or an analogue of multicellular organisms? **Microbiology**, v. 76, n. 2, p. 125-138, 2007. [64] LAVERTY, G.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Biofilms and implant-associated infections. In: BARNES, L.; COOPER, I. (Eds.). **Biomaterials and Medical Device - Associated Infections**, Woodhead: Oxford, 2015. p. 19-45.
- [65] ZIMMERLI, W.; TRAMPUZ, A. Implant-associated infections. In: BJARNSHOLT, T. et al. (Eds.). **Biofilm infections**, Springer Science: New York, 2011. p. 69-89.
- [66] ZALAVRAS, C. G.; PATZAKIS, M. J.; HOLTOM, P. Local antibiotic therapy in the treatment of open fractures and osteomyelitis. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 427, p. 86-93, 2004.
- [67] MOHANKANDHASAMY, R.; JINTAE, L. Recent Nanotechnology Approaches for Prevention and Treatment of Biofilm-Associated Infections on Medical Devices. **BioMed Research International**, vol. 2016, 17 pages, 2016.
- [68] AN, Y. H.; FRIEDMAN, R. J. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. **Journal of Microbiological Methods**, v. 30, n. 43, p. 141-152, 1997.
- [69] MAH, T. F.; O'TOOLE, G. A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. **Trends in Microbiology**, v. 9, p. 34-39, 2001.
- [70] COBB, W. S. et al. Intra-abdominal placement of antimicrobial-impregnated mesh is associated with noninfectious fever. **The American Surgeon**, v. 72, p. 1205-1208, 2006.
- [71] ZILBERMAN, M.; ELSNER, J. J. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. **Journal of Controlled Release**, v. 130, p. 202-15, 2008.

- [72] DAVIS, S. C. et al. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization *in vivo*. **Wound Repair and Regeneration**, v. 16, n.1, p. 23-9, 2008.
- [73] OTTO, M. Staphylococcal Biofilms. In: ROMEO, T. (Ed.) **Current Topics in Microbiology and Immunology: Bacterial Biofilms**, Springer Verlag: Berlin, 2008. p. 207-228.
- [74] YAO, Y. et al. Factors characterizing *Staphylococcus epidermidis* invasiveness determined by comparative genomics. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 3, p. 1856-60, 2005.
- [75] HARRIS, L. G.; RICHARDS, R. G. Staphylococci and implant surfaces: a review. **Injury**, v. 37, n. 2, p. S3-14, 2006.
- [76] AN, Y. H.; FRIEDMAN, R. J. Prevention of sepsis in total joint arthroplasty. **Journal of Hospital Infection**, v. 33, n. 2, p. 93-108, 1996.
- [77] FRIEDMAN, R. J. Infection in total joint arthroplasty from distal intravenous lines: A case report. **The Journal of Arthroplasty**, v. 3, p. S69-71, 1988.
- [78] AL-FATTANI, M. A.; DOUGLAS, L. J. Penetration of *Candida* biofilms by antifungal agents. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 9, p. 3291-7, 2004.
- [79] ARAÚJO, E. A. et al. Aspectos coloidais da adesão de microorganismos. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1940-1948, 2010.
- [80] MIHAI, M. M. et al. Microbial biofilms: impact on the pathogenesis of periodontitis, cystic fibrosis, chronic wounds and medical device-related infections. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 1552-76, 2015.
- [81] PERCIVAL, S. L. et al. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, p. 323-34, 2015.
- [82] FRANCOLINI, I.; DONELLI, G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 59, n. 3, p.

227-38, 2010.

[83] GOLD, H. S.; MOELLERING JR, R. C. Antimicrobial-drug resistance. **The New England Journal of Medicine**, v. 335, n. 19, p. 1445-53, 1996.

[84] GRANSDEN, W. R. Antibiotic resistance: Nosocomial gram-negative infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 436-9, 1997.

[85] COBB, W. S. et al. Infection risk of open placement of intraperitoneal composite mesh. **The American Surgeon**, v. 75, p. 762-768, 2009.

[86] CEVASCO, M.; ITANI, K. M. Ventral hernia repair with synthetic, composite, and biologic mesh: Characteristics, indications, and infection profile. **Surgical Infections**, v. 13, p. 209-215, 2012.

[87] Ott, V.; Groebli, Y.; Schneider, R. Late intestinal fistula formation after incisional hernia using intraperitoneal mesh. **Hernia**, v. 9, p. 103-104, 2005.

[88] ENGELSMAN, A. F. et al. The phenomenon of infection with abdominal wall reconstruction. **Biomaterials**, v. 28, p. 2314-2327, 2007.

[89] ENGELSMAN, A. F. et al. Morphological aspects of surgical meshes as a risk factor for bacterial colonization. **British Journal of Surgery**, v. 95, p. 1051-1059, 2008.

[90] GUNGOR, B. et al. Comparison of the adherence of *E. coli* and *S. aureus* to ten different prosthetic mesh grafts: *In vitro* experimental study. **Indian Journal of Surgery**, v. 72, n. 226-231, 2010.

[91] HALAWEISH, I. et al. Novel *in vitro* model for assessing susceptibility of synthetic hernia repair meshes to *Staphylococcus aureus* infection using green fluorescent protein-labeled bacteria and modern imaging techniques. **Surgical Infections**, v.11, p. 449-454, 2010.

[92] AKYOL, C. et al. Outcome of the patients with chronic mesh infection following open inguinal hernia repair. **Journal of the Korean Surgical Society**, v. 84, n. 5, p. 287-291, 2013.

- [93] BUENO-LLEDÓ, J. et al. Predictors of mesh infection and explantation after abdominal wall hernia repair. **The American Journal of Surgery**, v. 213, n. 1, p. 50-57, 2017.
- [94] BUDAK, T. B. Comparação de tipos de malhas sintéticas em termos de adesão de *Escherichia coli* e desenvolvimento de infecções de malhas em um modelo de rato. **Pesquisa biomédica**, v. 28, n. 2, 2017.
- [95] LUHMANN, A.; MOSES, A. Successful conservative treatment of a *Candida albicans* intraperitoneal mesh infection following laparoscopic ventral hernia repair. **Hernia**, v. 19, p. 845, 2015.
- [96] MURILLO, O.; LORA-TAMAYO, J.; ARIZA, J. Systemic Treatment Options for Medical Device-Associated Infection. In: MORIARTY, T.; ZAAT, S.; BUSSCHER, H. (Eds.). **Biomaterials Associated Infection**, Springer: New York, 2013. p. 209-227.
- [97] CYPHERT, E. L.; VON RECUM, H. A. Emerging technologies for long-term antimicrobial device coatings: advantages and limitations. **Experimental Biology and Medicine**, v. 242, n. 8, p. 788-798, 2017.
- [98] ZANINI, S. et al. Development of antibacterial quaternary ammonium silane coatings on polyurethane catheters. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 451, p. 78-84, 2015.
- [99] THATIPARTI, T. R.; SHOFFSTALL, A. J.; VON RECUM, H. A. Cyclodextrin-based device coatings for affinity-based release of antibiotics. **Biomaterials**, v. 31, p. 2335-47, 2010.
- [100] JIA, Z. Bioinspired anchoring AgNPs onto micro-nanoporous TiO₂ orthopedic coatings: trap-killing of bacteria, surface-regulated osteoblast functions and host responses. **Biomaterials**, v. 75, p. 203-22, 2016.
- [101] SHARMIN, E. et al. Plant oil polyol nanocomposite for antibacterial polyurethane coating. **Progress in Organic Coatings**, v. 76, p. 541-7, 2013.
- [102] ELLENRIEDER, M. Influence of antimicrobial coatings of vacuum-assisted closure

dressings on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* growth kinetics: an *in vitro* study.

Surgical Infections, v. 16, p. 139-45 2015.

[103] SUSSMAN, E. M. et al. Different cytotoxicity responses to antimicrobial nanosilver coatings when comparing extract-based and direct-contact assays. **Journal of Applied Toxicology**, v. 35, p. 631-9, 2015.

[104] ZHANG, X. Microstructure and cytotoxicity evaluation of duplex-treated silver-containing antibacterial TiO₂ coatings. **Materials Science and Engineering: C**, v. 45, p. 402-10, 2014.

[105] ZANINI, S. Development of antibacterial quaternary ammonium silane coatings on polyurethane catheters. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 451, p. 78-84, 2015.

[106] GULTEKINOGLU, M. Designing of dynamic polyethyleneimine (PEI) brushes on polyurethane (PU) ureteral stents to prevent infections. **Acta Biomaterialia**, v. 21, p. 44-54, 2015.

[107] LU, Y. Self-defensive antibacterial layer-by-layer hydrogel coatings with pH-triggered hydrophobicity. **Biomaterials**, v. 45, p. 64-71, 2015.

[108] ATAR-FROYMAN, L. Anti-biofilm properties of wound dressing incorporating nonrelease polycationic antimicrobials. **Biomaterials**, v. 46, p. 141-8, 2015.

[109] ALMESLMANI, B. M. Multifunctional network-structured film coating for woven and knitted polyethylene terephthalate against cardiovascular graft-associated infections. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 485, p. 270-6, 2015.

[110] IZMAYLOV, B. Imidazolium salts grafted on cotton fibers for long-term antimicrobial activity. **Reactive and Functional Polymers**, v. 87, p. 22-8, 2015.

[111] ALTAY, E. Influence of alkyl chain length on the surface activity of antibacterial polymers derived from ROMP. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 127, p. 73-8, 2015.

- [112] PRANANTYO, D. et al. Tea stains-inspired initiator primer for surface grafting of antifouling and antimicrobial polymer brush coatings. **Biomacromolecules**, v. 16, p. 723-32, 2015.
- [113] MANDRACCI, P. Reduction of bacterial adhesion on dental composite resins by silicon-oxygen thin film coatings. **Biomedical Materials**, v. 10, n. 1, p. 015017, 2015.
- [114] TALLOSY, S. P. Investigation of the antibacterial effects of silver-modified TiO₂ and ZnO plasmonic photocatalysts embedded in polymer thin films. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, p. 11155-67, 2014.
- [115] YANOVSKA, A. A. et al. Silver-doped hydroxyapatite coatings formed on Ti-6Al-4V substrates and their characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 36, p. 215-20, 2014.
- [116] JAISWAL, S. et al. Dual effects of b-cyclo-dextrin-stabilized silver nanoparticles: enhanced biofilm inhibition and reduced cytotoxicity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 26, p. 52-62, 2015.
- [117] WU, H. et al. Preparation, antibacterial effects and corrosion resistant of porous Cu-TiO₂ coatings. **Applied Surface Science**, v. 308, p. 43-9, 2014.
- [118] MAHLTIG, B.; SOLTMANN, U.; HAASE, H. Modification of algae with zinc, copper and silver ions for usage as natural composite for antibacterial applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, p. 979-83, 2013.
- [119] HOOD, L. et al. Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine. **Science**, v. 306, n. 5296, p. 640-643, 2004.
- [120] GREGORY, P. Advanced materials and chemical vapor deposition. **Advanced Materials**, v. 7, n. 7, p. 605-606, 1995.
- [121] QIN, L. D. et al. On-wire lithography. **Science**, v. 309, n. 5731, p. 113-115, 2005.
- [122] GEISSLER, M.; XIA, Y. N. Patterning: Principles and some new developments.

Advanced Materials, v. 16, n. 15, p. 1249-1269, 2004.

[123] XIA, Y. N.; QIN, D.; WHITESIDES, G. M. Microcontact printing with a cylindrical rolling stamp: A practical step toward automatic manufacturing of patterns with submicrometer-sized features. **Advanced Materials**, v. 8, n. 12, p. 1015-1017, 1996.

[124] GEISLER, M.; MCLELLAN, J. M.; XIA, Y. N. Edge-spreading lithography: Use of patterned photoresist structures to direct the spreading of alkanethiols on gold. **Nano Letters**, v. 5, n. 1, p. 31-36, 2005.

[125] MEITL, M. A. et al. Transfer printing by kinetic control of adhesion to an elastomeric stamp. **Nature Materials**, v. 5, n. 1, p. 33-38, 2006.

[126] ZHANG, S. **Nanostructured Thin Films and Coatings**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p. 10-12.

[127] LU, Y. F. et al. Continuous formation of supported cubic and hexagonal mesoporous films by sol gel dip-coating. **Nature**, v. 389, n. 6649, p. 364-368, 1997.

[128] WU, N. L.; WANG, S. Y.; RUSAKOVA, I. A. Inhibition of crystallite growth in the sol-gel synthesis of nanocrystalline metal oxides. **Science**, v. 285, n. 5432, p. 1375-1377, 1999.

[129] ALDANA, J. et al. Size-dependent dissociation pH of thiolate ligands from cadmium chalcogenide nanocrystals. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 8, p. 2496-2504, 2005.

[130] ALDANA, J.; WANG, Y. A.; PENG, X. G. Photochemical instability of CdSe nanocrystals coated by hydrophilic thiols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 36, p. 8844-8850, 2001.

[131] SHULTZ, J. K. Decontamination: recommended practices. In: REICHERT, M.; YOUNG, J. H. **Sterilization Technology for the Health Care Facility**, Aspen: Gaithersburg, MD, 1997. p. 228-235.

- [132] RUTALA, W. A.; GERGEN, M. F; WEBER, D. J. Levels of microbial contamination on surgical instruments. **American Journal of Infection Control**, v. 26, n. 4, p. 393, 1998.
- [133] VASSAL, S. et al. Hydrogen peroxide gas plasma sterilization is effective against *Cryptosporidium parvum* oocysts. **American Journal of Infection Control**, v. 26, n. 2, p. 136, 1998.
- [134] MORFILL, G. E. et al. Nosocomial infections? A new approach towards preventive medicine using plasmas. **New Journal of Physics**, v. 11, n. 11, p. 115019, 2009.
- [135] KLEIN, L. L.; GIBBS, R. S. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 190, n. 6, p. 1493-1502, 2004.
- [136] LEE, H. W. et al. Tooth leaching with nonthermal atmospheric pressure plasma. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 4, p. 587-591, 2009.
- [137] FOSTER, K. W.; MOY, R. L.; FINCHER, E. F. Advances in plasma skin regeneration. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 7, n. 3, p. 169-179, 2008.
- [138] ETUFUGH, C. N; PHILLIPS, T. J. Venous ulcers. **Clinics in Dermatology**, v. 25, n. 1, p. 121-130, 2007.
- [139] ELSAIE, M. L; KAMMER, J. N. Evaluation of plasma skin regeneration technology for cutaneous remodeling. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 7, n. 4, p. 309-311, 2008.
- [140] PEKÁREK, S. Non-Thermal Plasma Ozone Generation. **Acta Polytechnica**, v. 43, n. 6, 2003.
- [141] FAVIA, P.; D'AGOSTINO, R. Plasma treatments and plasma deposition of polymers for medical applications. **Surface and Coatings Technology**, v. 98, n. 1102, 1998.
- [142] ROSSNAGEL, S. M. et al. **Handbook of plasma processing technology - fundamentals, etching, deposition and surface interactions**. New Jersey: Noyes, 1989. 546p.

- [143] WASA, K.; KITABATAKE, M.; ADACHI, H. **Thin Film Materials Technology: Sputtering of Compound Materials**. New York: William Andrew, 2004. 532 p.
- [144] <<http://www.iap.tuwien.ac.at/www/surface/sputteryield>>. Acesso em: 4 Jan. 2016.
- [145] BINYAMIN, G.; SHAFI B. M.; MERY, C. M. Biomaterials: A primer for surgeons. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 15, n. 4, p. 276–283, 2006.
- [146] THEVENOT, P.; HU, W.; TANG, L. Surface chemistry influence implant biocompatibility. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 8, n. 4, p. 270-280, 2008.
- [147] ZHANG, H.; WU M.; SEN, A; Silver Nanoparticle Antimicrobials and Related Materials. In: CIOFFI, N.; RAI, M. (Eds.). **Nano-Antimicrobials**, Springer: Berlin, 2012. p. 3-45.
- [148] RAI, M. et al. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 76-83, 2009.
- [149] POLLINI, M. et al. Engineering Nanostructured Silver Coatings for Antimicrobial Applications. In: CIOFFI, N.; RAI, M. (Eds.). **Nano-Antimicrobials**, Springer: Berlin, 2012. p. 313-336.
- [150] BARILLO, D. J.; MARX, D. E. Silver in medicine: A brief history BC 335 to present. **Burns**, v. 40s, p. s3-s8, 2014.
- [151] LEVARD, C. et al. Environmental Transformations of Silver Nanoparticles: Impact on Stability and Toxicity. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 13, p. 690-691, 2012.
- [152] GURUNATHAN, S. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. **Nanoscale Research Letters**, v. 9, p. 373, 2014.
- [153] GALLO, J. et al. Silver Nanocoating Technology in the Prevention of Prosthetic Joint Infection. **Materials**, v. 9, n. 5, p. 337, 2016.

- [154] CAO, H.; LIU, X. Silver nanoparticles-modified films versus biomedical device-associated infections. **Nanomedicine and nanobiotechnology**, v. 2, n. 6, p. 670-684, 2010.
- [155] NORONHA, V. T. et al. Silver nanoparticles in dentistry. **Dental Materials**, v. 33, n. 10, p. 1110-1126, 2017.
- [156] MARAMBIO-JONES, C.; HOEK, E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, n. 5, p. 1531-1551, 2010.
- [157] KIM, J. S. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 3, p. 95-101, 2007.
- [158] SHAHVERDI, A. R. et al. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 3, p. 168-171, 2007.
- [159] KIM, K. J. et al. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. **BioMetals**, v. 22, p. 235-242, 2009.
- [160] NADWORNYY, P. L. et al. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver in a porcine contact dermatitis model. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 4, p. 241-251, 2008.
- [161] ROGERS, J. V. et al. A preliminary assessment of silver nanoparticle inhibition of monkeypox virus plaque formation. **Nanoscale Research Letters**, v. 3, p. 129-133, 2008.
- [162] GURUNATHAN, S. et al. Antiangiogenic properties of silver nanoparticles. **Biomaterials**, v. 30, p. 6341-6350, 2009.
- [163] ASHARANI, P. V.; HANDE, M. P.; VALIYAVEETTIL, S. Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. **BMC Cell Biology**, v. 10, p. 65, 2009.
- [164] SRIRAM, M. I. et al. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton's lymphoma ascites tumor model. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 753-762, 2010.

- [165] DURÁN, N. et al. Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 6, 2010.
- [166] WANG, D. et al. Synthesis, Characterization and Application of Silver-Based Antimicrobial Nanocomposites. In: CIOFFI, N.; RAI, M. (Eds.). **Nano- Antimicrobials**, Springer: Berlin, 2012. p. 47-84.
- [167] DESPAX, B. et al. Transmission electron microscopy for elucidating the impact of silver-based treatments (ionic silver versus nanosilver-containing coating) on the model yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Nanotechnology**, v. 22, n. 17, p. 175101, 2011.
- [168] LIU, J. et al. Chemical Transformations of Nanosilver in Biological Environments. **ACS Nano**, v. 6, n. 11, p. 9887-9899, 2012
- [169] Liu J, Hurt RH. Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environ Sci Technol*. 2010;44:2169–2175.
- [170] MA, R. et al. Size-Controlled Dissolution of Organic-Coated Silver Nanoparticles. **Environmental Science & Technology**, v. 46, p. 752-759, 2012.
- [171] ZHANG, W. et al. Modeling the Primary Size Effects of Citrate-Coated Silver Nanoparticles on Their Ion Release Kinetics. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 4422-4428, 2011.
- [172] LIU, J.; PENNELL, K. G.; HURT, R. H. Kinetics and Mechanisms of Nanosilver Oxysulfidation. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 7345-7353, 2011.
- [173] LEVARD, C. et al. Sulfidation Processes of PVP-Coated Silver Nanoparticles in Aqueous Solution: Impact on Dissolution Rate. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 5260-5266, 2011.

- [174] KAEGI, R. et al. Behavior of Metallic Silver Nanoparticles in a Pilot Wastewater Treatment Plant. *Environ Sci Technol. Environmental Science & Technology*, v. 45, p. 3902-3908, 2011.
- [175] KENT, R. D.; VIKESLAND, P. J. Controlled Evaluation of Silver Nanoparticle Dissolution Using Atomic Force Microscopy. *Environmental Science & Technology*, v. 46, p. 6977-6984, 2012.
- [176] LI, X.; LENHART, J. J.; WALKER, H. W. Dissolution-Accompanied Aggregation Kinetics of Silver Nanoparticles. *Langmuir*, v. 26, p. 16690-16698, 2010.
- [177] HUYNH, K. A.; CHEN, K. L. Aggregation Kinetics of Citrate and Polyvinylpyrrolidone Coated Silver Nanoparticles in Monovalent and Divalent Electrolyte Solutions. *Environmental Science & Technology*, v. 45, p. 5564-5571, 2011.
- [178] CHINNAPONGSE, S. L.; MACCUSPIE, R. I.; HACKLEY, V. A. Persistence of Singly Dispersed Silver Nanoparticles in Natural Freshwaters, Synthetic Seawater, and Simulated Estuarine Waters. *Science of the Total Environment*, v. 409, p. 2443-2450, 2011.
- [179] GAO, J. et al. Influence of Suwannee River Humic Acid on Particle Properties and Toxicity of Silver Nanoparticles. *Chemosphere*, v. 89, p. 96-101, 2012.
- [180] RAVINDRAN, A. Studies on Interaction of Colloidal Ag Nanoparticles with Bovine Serum Albumin (BSA). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 76, p. 32-37, 2010.
- [181] KHAN, S. S. et al. Interaction of Silver Nanoparticles (SNPs) with Bacterial Extracellular Proteins (ECPs) and its Adsorption Isotherms and Kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, v. 192, p. 299-306, 2011.
- [182] KITTLER, S. Toxicity of Silver Nanoparticles Increases during Storage Because of Slow Dissolution under Release of Silver Ions. *Chemistry of Materials*, v. 22, p. 4548-4554, 2010.

- [183] XIU, Z.; MA, J.; ALVAREZ, P. J. J. Differential Effect of Common Ligands and Molecular Oxygen on Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles *versus* Silver Ions. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 9003-9008, 2011.
- [184] REINSCH, B. C. et al. Sulfidation of Silver Nanoparticles Decreases *Escherichia coli* Growth Inhibition. **Environmental Science & Technology**, v. 46, p. 6992-7000, 2012.
- [185] DUBEY, P. et al. Perturbation of cellular mechanistic system by silver nanoparticle toxicity: Cytotoxic, genotoxic and epigenetic potentials. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 221, p. 4-21, 2015.
- [186] MONTEIRO, D. R. et al. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 2, p. 103-110, 2009.
- [187] Burd, A. et al. A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. **Wound Repair and Regeneration**, v. 15, n. 1, p. 94-104, 2007.
- [188] ALBERS, W. et al. In vitro cytotoxicity of silver nanoparticles on osteoblasts and osteoclasts at antibacterial concentrations. **Nanotoxicology**, v.1, p. 30-6, 2012.
- [189] AHAMED, M. et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 233, p. 404-410, 2008.
- [190] MÉNDEZ-VILAS, A. **Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances Microbiology**. Spain: Formatex Research Center, 2011. 691p.
- [191] HETRICK, E. M.; SCHOENFISCH, M. H. Reducing implant-related infections: active release strategies. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 780-9, 2006.

- [192] YIN, L. Y. et al. More than the Ions: The Effects of Silver Nanoparticles on *Lolium multiflorum*. **Environmental Science & Technology**, v. 45, n. 6, p. 2360-2367, 2011.
- [193] MORONES, J. R. et al The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, n. 10, p. 2346-2353, 2005.
- [194] KAWAHARA, K. et al. Antibacterial effect of silver–zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. **Dental Materials**, v. 16, p. 452-455, 2000.
- [195] CHAW, K. C.; MANIMARAN, M.; TAY, F. E. H. Role of silver ions in destabilization of intermolecular adhesion forces measured by atomic force microscopy in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, p. 4853-4859, 2005.
- [196] JEFFERSON, K. K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS Microbiology Letters**, v. 236, p.163-173, 2004.
- [197] KIM, J. et al. Comparison of the antimicrobial effects of chlorine, silver ion, and tobramycin on biofilm. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, p. 1446-1453, 2008.
- [198] MURDOCK, R. C. et al. Characterization of Nanomaterial Dispersion in Solution Prior to *In vitro* Exposure Using Dynamic Light Scattering Technique. **Toxicological Sciences**, v. 101, n. 2, p. 239-253, 2008.
- [199] BJARNSHOLT, T. et al. Silver against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **APMIS**, v. 115, p. 921-928, 2007.
- [200] VALAPPIL, S. P. et al. Effect of silver content on the structure and antibacterial activity of silver-doped phosphate-based glasses. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, p. 4453-4461, 2007.
- [201] SCHIERHOLZ, J. M. et al. Efficacy of silver-coated medical devices. **Journal of Hospital Infection**, v. 40, p. 257-262, 1998.

- [202] SHEEHY, K. et al. Antimicrobial properties of nano-silver: A cautionary approach to ionic interference. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 443, p.56-64, 2015.
- [203] WARHEIT, D. B. How Meaningful are the Results of Nanotoxicity Studies in the Absence of Adequate Material Characterization? **Toxicological Sciences**, v. 101, n. 2, p. 183-185, 2008.
- [204] SADEGHI, B. et al. Comparison of the antibacterial activity on the nanosilver shapes: Nanoparticles, nanorods and nanoplates. **Advanced Powder Technology**, v. 23, n. 1, p. 22-25, 2012.
- [205] ABDULLAH, A.; Hamid, Z. Antimicrobial activity of Silver nanoparticles from *Capsicum sp.* Against *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.* and *Escherichia coli*. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 3, n. 7, p. 67-69, 2013.
- [206] MANEERUNG, T.; TOKURA, S.; RUJIRAVANIT, R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 1, p. 43-51, 2008.
- [207] XIU, Z. Negligible Particle-Specific Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles. **Nano Letters**, v. 12, n. 8, p. 4271-4275, 2012.
- [208] ROBERTSON, J. Diamond-like amorphous carbon. **Material Science and Engineering: Reports**, v. 37, p. 129-281, 2002.
- [209] LOVE, C. A. et al. Diamond like carbon coatings for potential application in biological implants – a review. **Tribology International**, v. 63, p. 141-150, 2013.
- [210] YANG, P. Haemocompatibility of hydrogenated amorphous carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms**, v. 206, p. 721-725, 2003.
- [211] YU, L. J. et al. Haemocompatibility of tetrahedral amorphous carbon films. **Surface**

- and Coatings Technology**, v. 128/129, p. 484-488, 2000.
- [212] NURDIN, N. et al. Hemocompatible diamond-like carbon (DLC) surfaces. **European Cells & Materials**, v. 5, p. 17-28, 2003.
- [213] JONES, M. I. et al. Haemocompatibility of DLC and TiC–TiN interlayers on titanium. **Diamond and Related Materials**, v. 8, p. 457-462, 1999.
- [214] LINDER, S.; PINKOWSKI, W.; AEPFELBACHER, M. Adhesion, cytoskeletal architecture and activation status of primary human macrophages on a diamond-like carbon coated surface. **Biomaterials**, v. 23, p. 767-773, 2002.
- [215] MOHANTY, M. et al. Long term tissue response to titanium coated with diamond like carbon. **Biomolecular Engineering**, v. 19, p. 125-128, 2002.
- [216] SHEEJA, D.; TAY, B. K.; NUNG, L. N. Feasibility of diamond-like carbon coatings for orthopaedic applications. **Diamond and Related Materials**, v. 13, p. 184-190, 2004.
- [217] HINUBER, C. Biocompatibility and mechanical properties of diamond-like coatings on cobalt-chromium-molybdenum steel and titanium-aluminum-vanadium biomedical alloys. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 95A, n. 388, 2010.
- [218] ROY, R. K.; LEE, K. R. Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings: A Review. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 83B, n. 1, p. 72-84, 2007.
- [219] DEARNALEY, G.; ARPS, J. H. Biomedical applications of diamond-like carbon (DLC) coatings: A review. **Surface and Coatings Technology**, v. 200, p. 2518-24, 2005.
- [220] ALAKOSKI, E. et al. Load-Bearing Biomedical Applications of Diamond-Like Carbon Coatings - Current Status. **The Open Orthopaedics Journal**, v. 2, p. 43-50, 2008.
- [221] TIAINEN, V-M. Amorphous carbon as a biomechanical coating - mechanical properties and biological applications. **Diamond and Related Materials**, v. 10, p. 153-60, 2001.

- [222] ALLEN, M.; MYER, B.; RUSHTON, N. *In Vitro* and *In Vivo* investigations into the biocompatibility of diamond like carbon coatings for Orthopedic Applications. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 58, n. 3, p. 319-28, 2001.
- [223] DOWLING, D. P. et al. Evaluation of diamond-like carbon-coated orthopaedic implants. **Diamond and Related Materials**, v. 6, p. 390-3, 1997.
- [224] YANG, P. Activation of platelets adhered on amorphous hydrogenated carbon (a-C:H) films synthesized by plasma immersion ion implantation-deposition (PIII-D). **Biomaterials**, v. 24, n. 17, p. 2821-9, 2003.
- [225] NAGASHIMA, S. Effect of oxygen plasma treatment on non-thrombogenicity of diamond-like carbon films. **Diamond and Related Materials**, v. 19, p. 861-865, 2010.
- [226] ALI, S. S. et al. A biologically effective fullerene (C60) derivative with superoxide dismutase mimetic properties. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, p. 1191-202, 2004.
- [227] <<http://www.nemstek.com.tw/images/growth.gif>> Acesso em: 7 Jan. 2018.
- [228] HAUERT, R.; THORWARTH, K.; THORWARTH, G. An overview on diamond-like carbon coatings in medical applications. **Surface and Coatings Technology**, v. 233, p. 119-130, 2013.
- [229] STOUT, K. J.; BLUNT, L. **Three-Dimensional Surface Topography**. Ohio: Penton Press, 2000. 320 p.
- [230] AWAJA, F. et al. Adhesion of polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 9, p. 948-968, 2009.
- [231] FOWKES, F. M. Attractive forces at interfaces. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 56, p. 40-52, 1964.
- [232] OWENS, D. K.; WENDT, R. C. Estimation of the surface free energy of polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 13, p. 1741-1747, 1969.

- [233] GARCÍA, R.; PERÉZ, R. Dynamic atomic force microscopy methods. **Surface Science Reports**, v. 47, n. 6–8, p. 197–301, 2002.
- [234] CANEVAROLO JUNIOR, S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber, 2003. 448 p.
- [235] <http://ca.iq.usp.br/novo/paginas_view.php?idPagina=13>. Acesso em: 07 Jan. 2018.
- [236] GRIFFITHS, P.; DE HASSETH, J. A.; WINEFORDNER, J. D. **Fourier Transform Infrared Spectrometry**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2007. 560 p.
- [237] WATTS, J. F.; WOLSTENHOLME, J. **An introduction of Surface Analysis by XPS and AES**. Chichester: John Wiley & Sons, 2003. 224 p.
- [238] <<http://www.anton-paar.com/uk-en/products/details/nano-scratch-tester-nst3/>>. Acesso em: 07 Jan. 2018.
- [239] HERTZBERG, R. W.; VINCI, R. P.; HERTZBERG, J. L. **Deformation and fracture mechanics of engineering materials**. New York: John Wiley & Sons, 1996. 784 p.
- [240] ASKELAND, D. R.; PHULÉ, P. P. **The science and engineering of materials**. California: Brooks/Cole-Thomson Learning, 2003. 854 p.
- [241] CALLISTER, J. R.; William, D. **Ciência e engenharia de materiais: uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC, 2002. 844 p.
- [242] GARCIA, A.; SPIM, J. A.; DOS SANTOS, C. A. **Ensaio dos materiais**. Campinas: LTC, 2000. 248 p.
- [243] COBB, W. S. et al. Mesh terminology 101. **Hernia**, v. 13, p. 1-6, 2009.
- [244] UZUMAKI, E. T. et al. Surface properties and cell behaviour of diamond-like carbon coatings produced by plasma immersion. **Thin Solid Films**, v. 515, n. 1, p. 293-300, 2006.
- [245] MEDINA, O. et al. Bactericide and bacterial anti-adhesive properties of the nanocrystalline diamond surface. **Diamond and Related Materials**, v. 22, p. 77-81, 2012.

- [246] LU, D. R.; PARK, K. Effect of surface hydrophobicity on the conformational changes of adsorbed fibrinogen. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 144, p. 271-281, 1991.
- [247] HU, W. J.; Eaton, J. W.; Tang, L. Molecular basis of biomaterial-mediated foreign body reactions. **Blood**, v. 98, p. 1231-1238, 2001.
- [248] EVANS-NGUYEN, K. M. et al. Changes in adsorbed fibrinogen upon conversion to fibrin. **Langmuir**, v. 22, p. 5115-5121, 2006.
- [249] COLLIER, T. O.; ANDERSON, J. M. Protein and surface effects on monocyte and macrophage adhesion, maturation, and survival. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 102, n. 60, p. 487-496, 2002.
- [250] DADSETAN, M. et al. Surface chemistry mediates adhesive structure, cytoskeletal organization, and fusion of macrophages. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 71, p. 439-448, 2004.
- [251] REBELO, R. et al. Influence of oxygen content on the antibacterial effect of AgO coatings deposited by magnetron sputtering. **Surface and Coatings Technology**, v. 305, p. 1-10, 2016.
- [252] VLADKOVA, T. G. Surface Engineered Polymeric Biomaterials with Improved Biocontact Properties. **International Journal of Polymer Science**, v. 2010, p. 1-22, 2010.
- [253] HUSSAIN, S.; ROY, R. K.; PAL, A. K. Incorporation of silver nanoparticles in DLC matrix and surface plasmon resonance effect. **Materials Chemistry and Physics**, v. 99, p. 375-381, 2006.
- [254] ABDEL-HAMID, H. M. Effect of electron beam irradiation on polypropylene films - dielectric and FT-IR studies. **Solid-State Electronics**, v. 49, p. 1163-1167, 2005.
- [255] BOWER, D. I.; MADDAMS, W. F. **The Vibrational Spectroscopy of Polymers**. Cambridge University Press, 1989. 300 p.
- [256] AHMED, S. F. et al. Nano-embossed structure on polypropylene induced by low energy

Ar ion beam irradiation. **Surface & Coatings Technology**, v. 205, p. 104-108, 2010.

[257] PANDA, K. et al, Nanoscale investigation of enhanced electron field emission for silver ion implanted/post-annealed ultrananocrystalline diamond films. **Scientific Reports**, v. 7, 2017.

[258] JONES, B. J.; OJEDA, J. J. Substrate and material transfer effects on the surface chemistry and texture of diamond-like carbon deposited by plasma-enhanced chemical vapour deposition. **Surface and Interface Analysis**, v. 44, p. 1187-1192, 2012.

[259] MORENT, R. et al. Comparison between XPS- and FTIR-analysis of plasma-treated polypropylene film surfaces. **Surface and Interface Analysis**, v. 40, p. 597-600, 2008.

[260] PÍSAŘÍK, P. et al. Antibacterial, mechanical and surface properties of Ag-DLC films prepared by dual PLD for medical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 955-962, 2017.

[261] XIAO, L. et al. Facile synthesis of mesoporous titanium dioxide doped by Ag-coated graphene with enhanced visible-light photocatalytic performance for methylene blue degradation. **RSC Advances**, v. 7, p. 25314-25324, 2017.

[262] KRYLOVA, V.; DUKŠTIENĖ, N. Synthesis and Characterization of Ag₂S Layers Formed on Polypropylene. **Journal of Chemistry**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

[263] OZAWA, K.; KAKEMOTO, H.; IRIE, H. Thermoelectric Properties of Silver Antimonate with Mixed Valency of Antimony. **Journal of Materials Science and Chemical Engineering**, v. 5, p. 121-128, 2017.

[264] KASPAR, T. C. et al. Spectroscopic Evidence for Ag (III) in Highly Oxidized Silver Films by X-ray Photoelectron Spectroscopy. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, p. 21562-21571, 2010.

- [265] ZHU, L-M.; SCHUSTER, P.; KLINGE, U. Mesh implants: An overview of crucial mesh parameters. **World Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 7, n. 10, p. 226-236, 2015.
- [266] FENNER, D. E. New surgical mesh. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v. 43, p. 650-658, 2000.
- [267] MAURER, M. M. et al. Mechanical biocompatibility of prosthetic meshes: A comprehensive protocol for mechanical characterization. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 40, p. 42-58, 2014.
- [268] DuBay, D. A. et al. Mesh incisional herniorrhaphy increases abdominal wall elastic properties: a mechanism for decreased hernia recurrences in comparison with suture repair. **Surgery**, v. 140, p. 14-24, 2006.
- [269] ALIZAI, P. H. et al. Biomechanical analyses of prosthetic mesh repair in a hiatal hernia model. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 102, p.1485-1495, 2014.
- [270] COBB, W. S. et al. Normal intraabdominal pressure in healthy adults. **Journal of Surgical Research**, v. 129, p. 231-235, 2005.
- [271] SABERSKI, E. R.; ORENSTEIN, S. B.; NOVITSKY, Y. W. Anisotropic evaluation of synthetic surgical meshes. **Hernia**, v. 15, p. 47-52, 2011.
- [272] HERNÁNDEZ-GASCÓN, B. et al. Mechanical behaviour of synthetic surgical meshes: Finite element simulation of the herniated abdominal wall. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 3905-3913, 2011.
- [273] LI, X. et al. Characterizing the *ex vivo* mechanical properties of synthetic polypropylene surgical mesh. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 37, p. 48-55, 2014.

- [274] Anurov, M. V.; Titkova, S. M.; Oettinger, A. P. Biomechanical compatibility of surgical mesh and fascia being reinforced: dependence of experimental hernia defect repair results on anisotropic surgical mesh positioning. **Hernia**, v. 16, p. 199-210, 2012.
- [275] SPANGBERG, L. S. Correlation of *in vivo* and *in vitro* screening tests. **Journal of Endodontics**, v. 4, n. 10, p. 296-9, 1978.
- [276] ROGERO, S. O. et al. Teste *in vitro* de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.
- [277] RISS, T. L. et al. Cell Viability Assays. In: Sittampalam, G. S. et al. (Eds.). **Assay Guidance Manual**. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2004.
- [278] SLETTEN, G. B.; DAHL, J. E. Cytotoxicity effects of extracts of compomers. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 57, n. 6, p. 316-22, 1999.
- [279] MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.
- [280] BÖHM, L. et al. The yeast form of the fungus *Candida albicans* promotes persistence in the gut of gnotobiotic mice. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 10, p. e1006699, 2017.
- [281] MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.
- [282] BERMAN, J. Morphogenesis and cell cycle progression in *Candida albicans*. **Current opinion in microbiology**, v. 9, n. 6, p. 595-601, 2006.
- [283] WHITEWAY, M.; BACHEWICH, C. Morphogenesis in *Candida albicans*. **Annual review of microbiology**, v. 61, p. 529-553, 2007.
- [284] ANDERSON, J. M.; SOLL, D. R. Unique phenotype of opaque cells in the white-opaque transition of *Candida albicans*. **Journal of Bacteriology**, v. 169, p. 5579-5588, 1987.

- [285] RAMAGE, G. et al. *Candida Biofilms: an Update*. **Eukaryotic Cell**, v. 4, n. 4, p. 633-638, 2005.
- [286] YANG, L. et al. Bactérias no saco de hérnia: um importante fato de risco para infecção do local cirúrgico após reparação da hérnia encarcerada. **Hernia**, v. 19, p. 279, 2015.
- [287] MARCIANO, F. R. et al. Wettability and antibacterial activity of modified diamond-like carbon films. **Applied Surface Science**, v. 255, n. 20, p. 8377-8382, 2009.
- [288] MARCIANO, F. R. et al. Investigation into the antibacterial property and bacterial adhesion of diamond-like carbon films. **Vacuum**, v. 85, n. 6, p. 662-666, 2011.
- [289] AL-JUMAILI, A. et al. Review on the Antimicrobial Properties of Carbon Nanostructures. **Materials**, v. 10, n. 9, p. 1066, 2017.
- [290] MAAS, M. Carbon Nanomaterials as Antibacterial Colloids. **Materials**, v. 9, n. 8, p. 617, 2016.
- [291] MOORMEIER, D. E. et al. Temporal and stochastic control of *Staphylococcus aureus* biofilm development. **MBio**, v. 5, n. 5, p. e01341-14, 2014.
- [292] BELOIN, C.; ROUX, A.; GHIGO, J-M. *Escherichia coli* biofilms. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 322, p. 249-289, 2008.
- [293] ZHOU, H. et al. Investigation into the antibacterial property of carbon films. **Diamond and Related Materials**, v. 17, n. 7–10, p. 1416-1419, 2008.
- [294] ISHIHARA, M. et al. Antibacterial activity of fluorine incorporated DLC films. **Diamond and Related Materials**, v. 15, n. 4–8, p. 1011-1014, 2006.
- [295] WANG, J. et al. Bacterial repellence from polyethylene terephthalate surface modified by acetylene plasma immersion ion implantation–deposition. **Surface and Coatings Technology**, v. 186, n.1-2, p. 299-304, 2004.

- [296] FLINT, S. H.; BROOKS, J. D.; BREMER, P. J. Properties of the stainless steel substrate, influencing the adhesion of thermo-resistant streptococci. **Journal of Food Engineering**, v. 43, n. 4, p. 235-242, 2000.
- [297] LIU, J. et al. Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces. **ACS Nano**, v. 4, p. 6903-6913, 2010.
- [298] REIDY, B. et al. Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. **Materials**, n. 6, p. 2295–2350, 2013.
- [299] REBELO, R. et al. Morphology and oxygen incorporation effect on antimicrobial activity of silver thin films. **Applied Surface Science**, v. 371, p. 1-8, 2016.
- [300] NINGANAGOUDA, S. et al. Growth kinetics and mechanistic action of reactive oxygen species released by silver nanoparticles from *Aspergillus niger* on *Escherichia coli*. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- [301] FERRERI, I. et al. Silver activation on thin films of Ag-ZrCN coatings for antimicrobial activity. **Materials Science and Engineering C: Materials for Biological Applications**, v. 55, p. 547-555, 2015.
- [302] CAZALINI, E. M. et al. Antimicrobial and anti-biofilm properties of polypropylene meshes coated with metal-containing DLC thin films. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 28, p. 97, 2017.
- [303] COHEN, M. S. et al. *In Vitro* Analysis of a Nanocrystalline Silver-Coated Surgical Mesh. **Surgical Infections**, v. 8, n. 3, 2007.
- [304] MUZIO, G. et al Polypropylene prostheses coated with silver nanoclusters/silica coating obtained by sputtering: Biocompatibility and antibacterial properties. **Surface and Coatings Technology**, v. 319, p. 326-334, 2017.

Apêndice

UFC/amostra - <i>Candida Albicans</i>						
PP	A3	A5	A7	C100	C200	C300
2100000	350000	690000	1300000	6500000	13000000	3700000
210000	1200000	640000	450000	4300000	7000000	5100000
140000	540000	450000	670000	7000000	6100000	15000000
130000	330000	360000	2000000	6000000	4800000	13000000
250000	1800000	2000000	1900000	7400000	4900000	15000000
210000	230000	250000	380000	4200000	5500000	5400000
340000	26000	380000	200000	2700000	5400000	6600000
65000	290000	200000	440000	3300000	4200000	5300000
250000	150000	290000	370000	3200000	6000000	4200000
130000	61000	240000	560000	3700000	4900000	3300000
UFC/amostra - <i>Staphylococcus aureus</i>						
PP	A3	A5	A7	C100	C200	C300
100000	60000	40000	1000000	700000	43000000	66000000
130000	70000	41000	430000	430000	52000000	73000000
19000	47000	700000	1600000	280000	77000000	51000000
180000	800000	1900000	110000	70000	27000000	10000000
70000	4000000	400000	600000	4000000	7000000	38000000
700000	260000	200000	70000	60000	400000	180000
140000	300000	120000	180000	150000	2600000	500000
60000	1800000	300000	60000	330000	1100000	700000
110000	3700000	70000	2100000	500000	1700000	900000
160000	800000	44000	150000	700000	1300000	260000
UFC/amostra - <i>Escherichia coli</i>						
PP	A3	A5	A7	C100	C200	C300
9000000	10000000	7000000	7000000	22000000	100000000	8000000
7000000	29000000	16000000	12000000	14000000	260000000	6000000
12000000	12000000	11000000	6000000	15000000	100000000	15000000
6000000	3000000	12000000	10000000	11000000	8000000	7000000
5000000	23000000	7000000	9000000	6000000	13000000	10000000
17000000	16000000	25000000	26000000	49000000	31000000	40000000
30000000	29000000	48000000	13000000	37000000	32000000	30000000
18000000	25000000	21000000	23000000	27000000	35000000	17000000
26000000	29000000	24000000	20000000	40000000	20000000	35000000
14000000	19000000	22000000	8000000	34000000	28000000	26000000

