

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

SILVIA BOHRER OLIVA STEFFENS

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS NATURAIS EM
ELASTÔMEROS COM POTENCIAL USO BIOMÉDICO**

**CAXIAS DO SUL
2018**

SILVIA BOHRER OLIVA STEFFENS

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS NATURAIS EM
ELASTÔMEROS COM POTENCIAL USO BIOMÉDICO**

Dissertação de Mestrado apresentado
ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da
Universidade de Caxias do Sul visando a obtenção
de grau de Mestre em Biotecnologia, orientada pelo
Professor Doutor André Felipe Streck

Caxias do Sul
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

S817a Steffens, Silvia Bohrer Oliva

Avaliação de atividade antifúngica de compostos naturais em elastômeros com potencial uso biomédico [recurso eletrônico] / Silvia Bohrer Oliva Steffens. – 2018.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2018.

Orientação: André Felipe Streck.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Materiais biomédicos. 2. Elastômero. 3. Vulcanização. 4. Esterilização. 5. Agentes anti-infecciosos. I. Streck, André Felipe, orient. II. Título.

CDU 2. ed.: 616-7

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Ana Guimarães Pereira - CRB 10/1460

SILVIA BOHRER OLIVA STEFFENS

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS NATURAIS EM
ELASTÔMEROS COM POTENCIAL USO BIOMÉDICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do título de Mestra em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. André Felipe Streck

DISSERTAÇÃO APROVADA EM

Banca examinadora:

Prof. Dr. André Felipe Streck

Prof. Dra. Miriam Salvador

Prof. Dr. Otávio Bianchi

Prof. Dr. Sidney Moura e Silva

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, autor de todas as coisas, sem Ele certamente não teria chegado até aqui...

Agradeço a minha filha Alice, através do seu sorriso ganho força para superar qualquer obstáculo...

Agradeço ao meu esposo Guilherme que sempre me apoiou e muitas vezes socorreu na elaboração deste trabalho, a você meu eterno amor.

Agradeço à Daniela Steffens Vergani, que prontamente soube me auxiliar nas dúvidas e com certeza contribuiu na concretização deste sonho, a sua ajuda foi fundamental.

Agradeço a todos os meus familiares de uma forma geral, pois são meu alicerce.

Agradeço a minha mãe Elenita (*in memoriam*), pois todas as minhas conquistas são dedicadas a ela, meu exemplo de força e superação nos momentos de angústia e dificuldades.

Agradeço aos mestres deste Programa por todo conhecimento transmitido.

“Dificuldades preparam pessoas comuns para destinos extraordinários.”

C.S.Lewis

RESUMO

As infecções do trato urinário associadas ao uso de cateter representam uma das causas mais comuns de morbidade e mortalidade. Fungos como a *Candida* spp. podem entrar no trato urinário, aderir na superfície da mucosa e ao cateter urinário e estabelecer um biofilme. A fim de obter opções preventivas para a infecção do trato urinário causado por *Candida* spp. foram desenvolvidos biomateriais com diferentes concentrações de óleo essencial de canela e comparada sua ação antifúngica com diferentes inibidores, dentre eles furfural e extrato de *Pycnoporus sanguineus* para uso em cateter urinário. A atividade antifúngica foi verificada considerando a inibição *in vitro* de *C. albicans* e *C. tropicalis*. O extrato de *P. sanguineus* não se mostrou efetivo e não foi utilizado para como componente em elastômeros. Os elastômeros produzidos com furfural e óleo essencial de canela foram testados quanto às suas propriedades físicas químicas, realizando-se testes de análise termogravimétrica (TGA), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e análises mecânicas. As análises mostraram que a temperatura de degradação do óleo essencial de canela foi de 435,6°C enquanto que o furfural se decompôs a uma temperatura de 120°C, temperatura inferior à utilizada para a vulcanização, portanto não evoluindo à fase de impregnação ao elastômero. Os elastômeros foram então vulcanizados a 100°C e 150°C e posteriormente testados para a inibição de *C. albicans*. Observou-se que a vulcanização a 100°C foi mais efetiva em comparação a 150°C, com inibição maior mesmo no elastômero sem adição de óleo essencial de canela. Finalmente, três métodos diferentes de esterilização foram testados, sendo a esterilização com óxido de etileno capaz de manter atividade antifúngica dos elastômeros. Assim, um elastômero com potencial biomédico foi desenvolvido, para posteriormente ser utilizado em cateteres urinários impregnados, evitando-se assim a contaminação por fungos na uretra.

Palavras-chave: biomaterial; composto elastomérico; vulcanização; esterilização e ação antifúngica.

ABSTRACT

Urinary tract infections associated with catheter use are one of the most common causes of morbidity and mortality. Fungi like *Candida* spp. can enter the urinary tract, adhere on the surface of the mucosa and urinary catheter and establish a biofilm. In order to obtain preventive options for urinary tract infection caused by *Candida* spp. biomaterials with different concentrations of essential oil of cinnamon were developed for use in urinary catheter and compared against different types of antifungal (furfural and extract of *Pycnoporus sanguineus*). The antifungal activity was verified considering the inhibition *in vitro* of *C. albicans* and *C. tropicalis*. The extract of *P. sanguineus* was not effective and was not used as a component in elastomers. The elastomers produced with furfural and cinnamon essential oil were tested for their chemical physical properties, being carried out tests of thermogravimetric analysis (TGA), infrared spectroscopy (FTIR) and mechanical analysis. The analyzes showed that the degradation temperature of the essential oil of cinnamon was 435,6°C whereas the furfural was decomposed at a temperature of 120°C, temperature lower than the one used for the vulcanization process, thus not evolving to the impregnation phase. The elastomers were then vulcanized at 100°C and 150°C and subsequently tested for inhibition of *C. albicans*. It was observed that vulcanization at 100°C was more effective compared to 150°C, with higher inhibition even in the elastomer without addition of cinnamon essential oil. Finally, three different methods of sterilization were tested, with ethylene oxide sterilization capable of maintaining antifungal activity of the elastomers. Thus, an elastomer with biomedical potential was developed, later to be used in impregnated urinary catheters, thus avoiding contamination by fungi in the urethra.

Keywords: biomaterial; elastomeric compound; vulcanization; sterilization and antifungal action.

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	American Society for Testing and Materials
AC	Autoclave
ETO	Óxido de Etileno
FDA	Food and Drug Association
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
IDSA	Sociedade de Doenças Infectocontagiosas da América
ITU	Infecção do Trato Urinário
MIC	Concentração Inibitória Mínima
NR	Natural Rubber
PH	Peróxido de Hidrogênio
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SVD	Sonda Vesical De Demora
TGA	Análise Termogravimétrica

ÍNDICE

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 Biomateriais	14
3.2 Biomaterial aplicado em cateterismo vesical	14
3.3 Borracha natural (NR)	16
3.4 Formulação de um composto elastomérico	17
3.5 Infecção do trato urinário relacionada à sonda vesical de demora	18
3.7 Agentes antifúngicos	22
3.8 Outras fontes alternativas aos antifúngicos	25
3.9 Resistência aos antifúngicos	26
3.10 Métodos de esterilização de materiais biomédicos.....	27
4 RESULTADOS	29
4.1 ARTIGO	30
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
6 RESULTADOS	66
6.1 Determinação das concentrações de agentes antifúngicos	66
7 DISCUSSÃO	70
8 CONCLUSÕES	73
MATERIAL SUPLEMENTAR	74
9 DISCUSSÃO GERAL	84
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS	86
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87

1 INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário associadas ao uso de cateter representam uma das causas mais comuns de morbidade e mortalidade. A resistência demonstrada por muitos microrganismos às terapias antibióticas convencionais e os crescentes custos de cuidados de saúde incentivaram recentemente a definição de estratégias preventivas alternativas, que mostram efeito positivo na gestão de infecções (COOPER *et al.*, 2016). O risco de infecções resistentes passa a ser maior em pacientes com cateterismo urinário prolongado (HOLLENBEAK; SCHILLING, 2018) e também com vários fatores, como as comorbidades, diabetes, hipertensão, câncer entre outras doenças.

Pacientes que utilizam cateteres por longo período correm risco de complicações como, dor e desconforto, desenvolvimento de cálculos nas vias urinárias, infecções das vias uretrais, inflamação renal crônica, infecções crônicas na bexiga (SAINT *et al.*, 2018) obstrução de cateter e câncer de bexiga. Estima-se que as infecções com o uso destes dispositivos ocorrem em aproximadamente 19% dos pacientes, sendo 7% infecções locais e 12% casos de bacteremia associada ao cateter (RISHPANA & KABBIN, 2015; THOMÉ, 2007).

Infecção de sondas vesicais ainda são problemáticas devido às infecções fúngicas (PENG *et al.*, 2018). Estas tendem a aumentar com os avanços dos procedimentos médicos, pois estes procedimentos aumentam a sobrevivência de pacientes imunocomprometidos e conseqüentemente aumentam o risco de infecções invasivas e oportunistas. A *Candida* spp. pode entrar no trato urinário, aderir na superfície da mucosa, aderir ao cateter urinário e estabelecer um biofilme. Este processo na maioria dos pacientes é assintomático; no entanto, este fungo pode causar cistite e/ou atingir os rins, produzindo pielonefrite. Dentre estas, a *Candida albicans* permanece como a espécie proeminentemente isolada de culturas de urina na comunidade e no ambiente hospitalar, sendo 85% e 68% do total, respectivamente. Entretanto, outras espécies do gênero *Candida* já representam quase 32% de todos os isolados importantes de ITU (ALFOUZAN, 2015; GOMES *et al.*, 2010).

Estas infecções têm maior incidência em imunocomprometidos e aliada às dificuldades apresentadas pela administração de drogas antifúngicas, tempo prolongado do tratamento, alto custo dos medicamentos e alta toxicidade dos medicamentos, vêm despertando interesse na busca de novos materiais que contribuam para sua inibição

(GOMES *et al.*, 2010). Neste sentido, estão sendo desenvolvidos novos biomateriais com o intuito de contornar problemas de incrustações, infecções e biofilmes nos cateteres (FRANT *et al.*, 2018; MASKARINEC *et al.*, 2018). As principais características necessárias ao biomateriais para o desenvolvimento de cateteres é serem biocompatíveis, atóxicos, não-carcinogênicos, bioestáveis, apresentar propriedades mecânicas adequadas, apresentar massa e densidade adequados, além de ser reprodutível e de fácil fabricação com custo relativamente baixo (ORÉFICE *et al.*, 2010). A fim de ampliar as propriedades com ação antifúngica desses biomateriais, este trabalho busca desenvolver biomateriais elastoméricos empregando em suas formulações tanto substâncias de origem natural como furfural, extrato de *Pycnoporus sanguineus* e óleo essencial de canela, bem como compará-los aos antifúngicos comerciais como anfotericina, nistatina, fluconazol, cetoconazol e itraconazol.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antifúngica de compostos naturais como óleo de canela, *Pycnoporus sanguineus* e furfural incorporados a elastômeros a base de borracha natural com potencial uso biomédico.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influencia da vulcanização nos elastômeros com os antifúngicos
- Avaliar a influência da esterilização nas propriedades antifúngicas dos elastômeros;
- Investigar diferentes concentrações e tipos de aditivo antifúngico a serem utilizados nos biomateriais desenvolvidos, considerando a inibição *in vitro* de *Candida albicans*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biomateriais

Os avanços científicos na medicina e na engenharia têm proporcionado soluções para muitos problemas atuais por meio do desenvolvimento de novos materiais, os chamados biomateriais ou o uso desses combinados. Biomateriais são substâncias de origem natural ou sintética que tem como função substituir, de forma transitória ou permanente, tecidos, órgãos ou funções do corpo humano. Entre estas substâncias, destaca-se o uso dos materiais poliméricos (JAMMALAMADAKA; TAPPA, 2018; ORÉFICE *et al.*, 2010; RAMAKRISHNA, 2001; RATNER, 2013).

Biomaterial é definido, em sentido amplo, como qualquer material farmacologicamente inerte capaz de interagir com um organismo vivo, não induzindo reações adversas no sítio de implantação ou mesmo sistemicamente. A aplicação de biomateriais sobre tecidos e mucosas constitui um risco terapêutico que pode ser controlado somente por meio do conhecimento das características, concentrações e propriedades dos produtos (JUNIOR & GARRAFA, 2007). Entretanto, a maioria dos materiais apresenta algum tipo de interação com o ambiente, o que pode comprometer sua utilização devido à deterioração de suas propriedades mecânicas, físicas ou de sua aparência (MORAIS *et al.*, 2007).

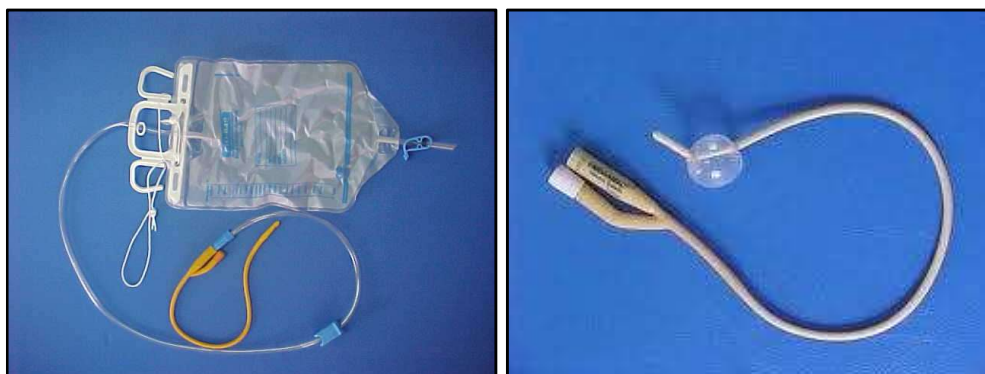
Assim, os biomateriais devem atender alguns requisitos fundamentais para o uso em seres vivos, como serem biofuncionais, apresentando características mecânicas adequadas para cumprir a função desejada durante o tempo necessário (JAMMALAMADAKA; TAPPA, 2018); e esterilizáveis, sem que haja mudança químico-estrutural do material. Esta esterilização é fundamental para o uso de biomateriais em seres vivos, uma vez que tem como proposta a eliminação de microrganismos, prevenindo transmissão de doenças com o uso do mesmo ou até mesmo levar a rejeição do biomaterial por ação inflamatória de defesa do organismo (RATNER, 2013).

3.2 Biomaterial aplicado em cateterismo vesical

O cateterismo de demora, diferentemente do cateterismo de alívio ou simples, pode desencadear complicações mais sérias, como a infecção hospitalar, podendo levar à morbidade, à sepse e à morte (BARROS *et al.*, 2013). O trato urinário cateterizado constitui um ambiente ideal para colonização bacteriana e fúngica, tendo sido estimado que 80% de todas as infecções hospitalares nosocomiais são atribuídas à presença de um cateter permanente, e infecções do trato urinário associadas ao cateter representam a infecção mais comum adquirida, com quase 500 mil casos reportados anualmente nos Estados Unidos (QUEIRÓS *et al.*, 2011; IRWIN *et al.*, 2013).

O sistema de coleta de urina da sonda vesical de demora compreende um tubo de drenagem conectado a sonda vesical onde o mesmo se conecta em sua via distal a uma bolsa coletora de urina, como mostra a Figura 1. Uma vez comprovada que a contaminação do tubo de drenagem pela via ascendente é a mais provável fonte de contaminação, o sistema de drenagem começou a ser substituído. No início dos anos 60, houve a transição de sistema aberto para sistema de drenagem fechado. Atualmente os sistemas de drenagem fechados são bolsas plásticas descartáveis que visam diminuir ainda mais a incidência de infecção urinária pela adição de alguns dispositivos como as válvulas anti-refluxo. Quando indicada a coleta de urina para cultura, o sistema dispõe de um dispositivo retrátil, bastando realizar assepsia com etanol 70% e aspiração local com seringa e agulha de fino calibre (HOMENKO *et al.*, 2003). Alguns cuidados também são imprescindíveis para se evitar ITU, como a limpeza do meato uretral com água e sabão neutro.

Figura 1. Cateter vesical de demora (esquerda) e sonda vesical (direita).



Fonte: Disponível em <http://nocaminhodaenfermagem.blogspot.com/2016/01/procedimento-sondagem-vesical-de-demora.html>

Cateteres vêm sendo desenvolvidos com o intuito de contornar problemas de incrustações e infecções (FRANT *et al.*, 2018). Os biomateriais revolucionaram a prática da medicina, no entanto, embora sejam empregados visando a melhora da saúde das pessoas, ainda causam morbidade e mortalidade por estarem frequentemente sujeitos a infecções. Novas opções de biomateriais estão sendo estudadas para evitar estas infecções, nestes novos dispositivos as camadas exteriores possuem a característica como hidrofília, propriedades antimicrobianas, baixa energia de superfície para tais fins uma alternativa é o uso da borracha natural (NR). (RATNER, 2013; JUNIOR & GARRAFA, 2007).

3.3 Borracha natural (NR)

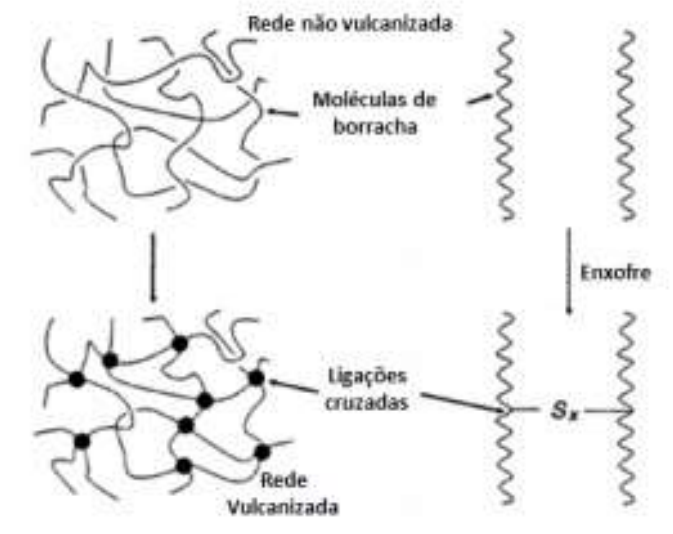
O látex de borracha natural, ou simplesmente látex, pode ser encontrado na natureza entre mais de 2.000 espécies de árvores. Dentre elas, a *Hevea brasiliensis*, originária da floresta amazônica, sendo a única com aplicação industrial e comercial. As borrachas são materiais poliméricos (elastômeros) com ampla utilização nas mais diferentes aplicações em função de suas propriedades únicas, como elasticidade, flexibilidade, impermeabilidade, resistência à abrasão e resistência à corrosão, que os distinguem dos outros materiais (CORNISH, 2001).

A borracha (NR) é formada por unidades de repetição cis-isopreno. A aplicação do látex na produção de borrachas sólidas passa por etapas de secagem e concentração, em seguida coagulado em ácido fórmico, prensado em cilindros para remover excesso de água, a última etapa envolve a secagem do material com fumaça originada da queima da madeira, a fumaça também atua como agente fungicida (ORÉFICE 2006).

3.3.1 Vulcanização da borracha

Segundo Oréfice (2006) o processo de vulcanização da borracha é muito importante para sua aplicação na indústria, pois ela aumenta a força retrativa e reduz a quantidade de deformação permanente, o agente reticulador mais utilizado é o enxofre. Durante a vulcanização há formação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas através de ligações mono e polisulfídricas como mostrado na Figura 2.

Figura 2. Transformações químicas ocorridas no processo de vulcanização da borracha.



Fonte: Traduzido de CALLISTER, 2012.

3.4 Formulação de um composto elastomérico

A formulação de elastômero envolve seleção de cargas e aditivos para se obter uma mistura que proporcione as propriedades físico-mecânicas, desejadas ao produto final (ROCHA *et al.*, 2003). Os objetivos principais de uma formulação de elastômero são assegurar ao produto final as propriedades requeridas para que satisfaça as exigências de uso.

Na formulação de um composto elastomérico utilizam-se vários constituintes, cujo número pode ser superior a dez. Cada um tem uma função específica e correspondente impacto nas propriedades, na processabilidade e no preço do composto. Os componentes que integram uma formulação podem ser classificados conforme Hofmann, 1999:

- **elastômero:** escolhido principalmente pelas propriedades químicas exigidas, como resistência a solventes, a óleos, ao ozônio e a produtos químicos;
- **lubrificantes e auxiliares de processo:** têm a função de reduzir a viscosidade para facilitar a absorção dos demais componentes;
- **aceleradores:** reduzem o tempo de vulcanização, melhorando as propriedades físicas e a resistência ao envelhecimento das composições;

- **ativadores:** acentuam a ação dos aceleradores, aumentando a velocidade de vulcanização;
- **aditivos:** são usados para conferir novas propriedades aos polímeros, uteis para melhorar o desempenho do material durante o processamento ou vida útil. Além disso os aditivos devem ser atóxicos e não alterar o gosto ou odor dos produtos, não migrar durante a vida do produto, ser de baixo custo e de fácil dispersão e distribuição e não alterar de forma indesejada as propriedades dos materiais;
- **antidegradantes e agentes de proteção:** são substâncias adicionadas ao elastômero com o intuito de retardar o envelhecimento do produto final;
- **cargas:** ingredientes usados para reforçar as propriedades físicas de um elastômero, além de conferir certas características de processamento, reduzir custo e reforçar o artefato final, como o negro de fumo por exemplo. São divididas em cargas inertes ou de enchimento, que visam reduzir os custos sem afetar às propriedades mecânicas do artefato, e as cargas reforçadoras, que melhoram as propriedades físicas, como resistência à tração, ao rasgamento e à abrasão. As mesmas possuem complexa estrutura tridimensional, grande área superficial e superfície ativa que favorece a interação com a matriz.

3.5 Infecção do trato urinário relacionada à sonda vesical de demora

A origem das infecções adquiridas no ambiente hospitalar geralmente é de natureza exógena e pode ser derivada de qualquer parte do ecossistema no hospital. Tais infecções nosocomiais aumentam a morbidade, a mortalidade e os custos que se poderia esperar da doença subjacente isoladamente, uma vez que se acredita que até 40% das infecções nosocomiais são evitáveis em países em desenvolvimento. Em geral, estas infecções são oportunistas e estão associadas a microrganismos de baixa virulência e a pacientes com imunidade prejudicada (LINDSAY & NICOLE, 2012).

As infecções do trato urinário (ITU) compreendem uma terminologia bastante abrangente, que acomete desde o meato uretral ao córtex renal, além de estruturas adjacentes às vias urinárias, como próstata e glândulas uretrais, cujo denominador comum é a invasão de microrganismos nestes tecidos (SOUZA *et al.*, 2007).

Segundo LUCHETTI *et al.* (2005), pacientes com ITUs devido ao uso crônico de sonda vesical de demora são envolvidos por inúmeros fatores predisponentes para tal

infecção. Entre estes destacam-se fatores bacterianos como virulência e a aderência aos receptores uroteliais, fatores do hospedeiro, como a desregulação da microbiota bacteriana normal, mudança no pH vaginal e urinário e o impedimento do ato de micção. Além disto ainda podem haver erros nas técnicas de assepsia e de sondagem vesical e excesso no tempo de sondagem predispondo a infecções. É valido lembrar que o cateterismo pode ser de curta permanência (< 7 dias), em pacientes pós-operatórios; média permanência (7 a 30 dias), em pacientes criticamente enfermos; e de longa permanência (> 30 dias), em pacientes com incontinência ou obstrução urinária (ANVISA, 2005).

Outros fatores de risco para ITU associadas à sondagem vesical de demora (SVD) são os extremos de idade, sexo feminino, doenças de base graves (SHUMAN; CHENOWETH, 2018) e uso indiscriminado de antibióticos . Estima-se que 10% dos pacientes com sonda são portadores de bactérias no momento da realização do procedimento, dos pacientes não bacteriúricos na fase pré-sondagem, e destes, 10% a 20% desenvolverão bacteriúria durante a cateterização. Por isso, a indicação, duração e os cuidados com o cateter são fatores determinantes para a redução da ITU associada a esse procedimento. A duração do cateterismo provavelmente é o fator mais importante de risco de infecção (QUEIRÓS *et al.*, 2011).

Em estudo realizado com 394 prontuários de pacientes no hospital universitário de Londrina internados em UTIs demonstrou que o patógeno mais frequentemente isolado nos casos de ITU relacionada a cateter foi a *Candida* sp. (44,4% dos pacientes) (BARROS *et al.*, 2013). Um estudo realizado com 148 pacientes para avaliar os fatores predisponentes a ITU em pacientes com cateter vesical, internados em UTI de um hospital de Londrina, que conclui que a maioria dos indicadores atingiu a quase totalidade das observações (posicionamento correto da bolsa coletora, sistema de drenagem fechado, fluxo urinário desobstruído e volume de urina abaixo de dois terços do nível da bolsa coletora). Entretanto, o indicador relacionado à fixação correta da sonda não foi observado em 93,0% das vezes, o que coloca os pacientes em risco de desenvolver ITU. Estima-se que infecções relacionadas à técnica de cateterismo estejam relacionadas com uma habilidade da *Candida* sp., a formação de biofilme. (BARROS *et al.*, 2013)

3.6 Infecção urinária por *Candida* spp. e sua capacidade de produção de biofilme em cateteres

As infecções fúngicas tendem a aumentar com os avanços dos procedimentos médicos, pois esses aumentam a sobrevivência de pacientes imunocomprometidos e consequentemente aumentam o risco de infecções fúngicas invasivas e oportunistas. Assim, são cada vez mais comuns infecções em cateteres em decorrência da presença de fungos, como *C. albicans* e *C. tropicalis*. *C. albicans* é o fungo mais frequentemente encontrada em ambientes hospitalares em diversos sítios. Esta espécie é a mais frequentemente detectada no trato urinário, sendo responsável por, aproximadamente, 70% dos casos clínicos, seguido de espécies como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* e outras (RODRIGUES *et al.*, 2011).

A presença de fungos na urina de pacientes hospitalizados é relativamente frequente, variando de uma colonização assintomática até uma cistite, pielonefrite, podendo evoluir para sepse. O termo candidúria, que não necessariamente envolve a presença de sinais e/ou sintomas de infecção urinária, pode ser definido como o crescimento de *Candida* sp. em culturas de urina coletadas com técnicas apropriadas. Trata-se de evento muito frequente entre pacientes expostos a fatores de risco, sendo que até 20% de pacientes hospitalizados podem apresentar candidúria ao longo de sua internação, particularmente pacientes de unidade de terapia intensiva (COLOMBO & GUIMARÃES, 2007).

A candidúria também pode ser definida como a observação de fungos leveduriformes no exame direto da urina, através da presença de pseudo-hifas e do crescimento do fungo no cultivo da urina, com ou sem sinais e sintomas. Estes fungos são parte da microbiota e comumente colonizam a mucosa e a superfície da genitália externa de humanos. As espécies de *Candida* colonizam mulheres mais frequentemente do que homens especialmente perto do meato uretral. As mulheres premenopáusicas jovens e até 1% de adultos saudáveis possuem espécies de *Candida* spp. em quantidades mensuráveis na urina (ALFOUZAN, 2015; MISHRA *et al.*, 2014).

Quando conjuntos emaranhados de microrganismos em uma matriz de polímero orgânico estão aderidos a uma superfície passam a ser chamados de biofilme. Em particular, a capacidade de *Candida* spp. em formar um biofilme é um atributo importante em infecções relacionadas ao cateter, que aumentam a mortalidade, morbidade e custos médicos. A *Candida* spp. pode entrar no trato urinário e estabelecer um biofilme ao aderir ao cateter urinário. Os biofilmes de *C. albicans*, por exemplo, consistem de uma complexa rede de leveduras em formação e hifas entrelaçadas protegido por um arcabouço de matriz extracelular composto de proteínas, polissacarídeos, lipídios, e ácidos nucleicos (PIERCE *et al.*, 2017). A maioria dos trabalhos realizados para estudar a formação de biofilme são feitos *in vitro* e mostram que os biofilmes são formados por bactérias e leveduras, formando uma mistura de espécies, que aumentam a virulência e complicam o diagnóstico e tratamento do paciente (SEGHIR *et al.*, 2017; NETT *et al.*, 2014).

Estes biofilmes são inerentemente resistentes aos agentes antifúngicos, incluindo a anfotericina B e o fluconazol, tornando-os ineficazes durante o tratamento da candidúria. Os dispositivos afetados precisam ser removidos para garantir um gerenciamento adequado. A capacidade de produção de biofilmes varia entre as espécies de *Candida*. Em particular, a capacidade dessa levedura em formar o biofilme na superfície é um atributo importante em infecções relacionadas ao cateter, que aumentam a mortalidade, morbidade e custos médicos (BARBADORO *et al.*, 2015; RISHPANA & KABBIN, 2015).

Os microrganismos responsáveis pela formação de biofilme derivam da microbiota do paciente e microbiota transitória ambiental ou exógena que pode ser transmitida por profissionais da saúde que transitam pelo hospital. Este é o caso da levedura oportunista que pertencem ao gênero *Candida* e algumas bactérias patogênicas. As categorias de indivíduos com maior risco de desenvolver infecções, devido à presença de biofilmes são pacientes imunocomprometidos hospitalizados em cuidados intensivos, bebês prematuros, doentes com câncer, transplantados, vítimas de queimaduras e pacientes submetidos à cirurgia de grande complexidade, especialmente envolvendo o trato digestivo ou urológica (GULATI & NOBILE, 2016).

Um estudo realizado por NETT *et al.*, (2014) descreve um modelo de roedores para o estudo da infecção pelo biofilme de *C. albicans* associada ao cateter urinário, mimetizando o processo que ocorre em pacientes. Na configuração de um funcionamento de um cateter urinário em ratos, a *Candida* proliferou como um biofilme na superfície do

dispositivo. A característica do biofilme foi observada, mostrando células aderentes, filamentosas embutidas em uma matriz extracelular, semelhante ao que ocorre em pacientes humanos. Os animais com esta infecção desenvolveram candidúria e piúria. A infecção evoluiu para a cistite, e uma cobertura de biofilme foi observada sobre a superfície da bexiga.

Como infecções relacionadas ao cateterismo estão fortemente relacionadas com a formação de biofilme, vários métodos para prevenção já foram sugeridos, como o uso de cateteres revestidos com prata e cateteres revestidos com antibióticos (SINGHAA; LOCKLINA; HANDAA, 2017) demonstram que cateteres revestidos de prata reduzem as infecções do trato urinário, evitando a formação de biofilmes quando comparados com cateteres convencionais (ZENG *et al.*, 2011). Por outro lado, também existem relatos de não haver alteração nas taxas de infecção do trato urinário com o uso desses tipos de cateteres (SHUMM *et al.*, 2009). Entretanto, há trabalhos que mostram aumento da bacteriúria nos homens pelo uso de tais cateteres (TEKE *et al.*, 2010).

3.7 Agentes antifúngicos

O número de medicamentos disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas é limitado. Restringe-se aos polienos convencionais e a primeira geração dos triazóis, como fluconazol e itraconazol. Muitas vezes, o uso concomitante de anfotericina B e um derivado dos azoles, principalmente fluconazol, torna-se uma prática adotada na terapêutica, como estratégia de segurança e eficácia.

Em ITUs a terapia de primeira linha é o fluconazol, de acordo com orientações da Sociedade de Doenças Infectocontagiosas da América (IDSA), principalmente porque possui farmacodinâmica favorável e propriedades cinéticas sobre o segunda escolha, a anfotericina B. O fluconazol pode ser tomado por via oral, metabolizado no fígado, com uma boa concentração excretada pela urina; no entanto, trabalhos recentes destacam o aumento de níveis elevados de resistência ao fluconazol (Concentração mínima inibitório, MIC), particularmente em *C.guilliermondii* e *C. Glabrata*. Notavelmente a *C. krusei* é intrinsecamente resistente ao fluconazol; apresentando 100% das cepas consideradas resistentes independente dos estudos de susceptibilidade *in vitro* (ALFOUZAN, 2015).

Dentre os principais fármacos que são empregados para combater fungos patogênicos temos a Anfotericina B. O fármaco é produzido a partir do *Streptomyces*

nodosus e atua sobre o ergosterol presente nas membranas dos fungos. Esta interação provoca a formação de poros e canais, aumentando a permeabilidade celular e assim interferindo nas funções de transporte e causando perturbações metabólicas e morte celular. A droga tem baixa absorção gastrointestinal, sendo que toda a administração deve ser intravenosa ou deve ser encapsulada em lipossomas. Entretanto, o custo é consideravelmente elevado, desta forma deve se avaliar o custo-benefício em cada caso específico (RANG *et al.*, 2004; MEYLER'S, 2016)

Desde o final dos anos 1950, a anfotericina B já era utilizada em alguns casos clínicos e em 1965, foi o primeiro agente antifúngico a ser aprovado pela *U.S. Food and Drug Administration* (FDA). Mesmo com a sua elevada toxicidade e a introdução de antifúngicos azólicos sistêmicos na década de 1980, a eficiência, o espectro de ação e os quase 50 anos de experiência clínica têm assegurado que a anfotericina B permaneça como fármaco de escolha no tratamento da maioria das micoses sistêmicas que acometem pacientes imunocomprometidos (FILIPIN & SOUZA, 2006).

A dosagem da anfotericina B para maioria das candidíases invasivas varia de 0,5 a 0,7 mg/kg/dia, entretanto dosagem de 1,0 mg/kg/dia deve ser considerada quando a infecção é causada por espécies de *Candida* menos sensíveis, a exemplo da *C. glabrata* e a *C. krusei*. Nestes casos, a dosagem varia entre 3-5 mg/kg/dia e pode haver risco de nefrotoxicidade (PAPPAS *et al.*, 2016; FILIPIN & SOUZA, 2006).

Já os antifúngicos azólicos (triazólicos), constituem um grupo de agentes fungistáticos sintéticos que inibem a enzima 14- α -desmetilase do sistema do citocromo P450. Esta enzima converte lanosterol em ergosterol. Com a depleção do ergosterol da membrana ocorre interferência na ação das enzimas ligadas à membrana, inibindo a replicação fúngica. Os triazólicos mais utilizados são fluconazol e itraconazol (CHEN & SORRELL, 2007).

O fluconazol apresenta biodisponibilidade oral, além de poder ser administrado por via endovenosa e rapidamente difunde-se pelos tecidos atingidos (CHEN & SORRELL, 2007). Infecções urinárias causadas por leveduras sensíveis ao fluconazol devem ser tratadas com este triazólico (SULLIVAN *et al.*, 2017). O fluconazol tem penetração no trato urinário, sendo que sua eficácia e tolerabilidade foram demonstradas em diferentes estudos (COLOMBO & GUIMARÃES, 2007).

A droga está disponível como um comprimido (em composições de 50, 100, ou 200 mg), como suspensão oral ou como uma formulação intravenosa (200 ou 400 mg).

Quando utilizado no tratamento de doença invasiva (por exemplo, infecções da corrente sanguínea, infecções de tecidos profundos, normalmente estéreis). O fluconazol é administrado com uma dose inicial de 800 mg (oral ou intravenosa), seguido por uma dose de manutenção diária de 400 mg (oral ou intravenosa).

Existe uma ampla experiência clínica do uso de fluconazol para o tratamento tanto da mucosa e candidíase invasiva, a medida em que deve ser considerado como um dos agentes de primeira linha para o tratamento de todas as formas de candidíase (PFALLER *et al.*, 2006).

O itraconazol, por sua vez, apresenta absorção variável pelo trato gastrointestinal, encontra-se ligado às proteínas (95,0%), tendo boa penetração nos tecidos (CHEN & SORRELL, 2007). A experiência limitada do itraconazol na abordagem de pacientes com infecções invasivas por *Candida spp.*, bem como os problemas de biodisponibilidade da sua formulação em cápsula, características farmacocinéticas de ligação proteica e sua reduzida excreção urinária dificultam sua aplicação (COLOMBO & GUIMARÃES, 2007).

O cetoconazol é um antifúngico pertencente a classe dos imidazóis, possuindo ação sistêmica e tópica, podendo ser incorporado em diversas formas farmacêuticas. O cetoconazol tem atividade contra infecções clínicas causadas por *Blastomices dermatidis*, *Candida sp.*, *Coccideoides imittis*, *Hitoplasma capsulatum*, *Paracoccidioidis brasiliensis*, *Tricophyton sp.*, *Ephidermophyton sp.*, *Microsporium sp.*, *Pitirosporium orbiculare* e *Criptococcus neoformans* (STAUB, 2005). Esta substância também demonstrou ser eficaz contra vários fungos e certos microrganismos Gram-positivos, quando administrados oralmente. Tem a vantagem sobre outros derivados azólicos por produzir níveis séricos satisfatórios após a ingestão oral (LIU *et al.*, 2018).

Por sua vez, a nistatina é um antibiótico polieno derivado de *Streptomyces noursei*, conhecido por ser eficaz contra uma variedade de infecções fúngicas em seres humanos. A nistatina consiste na ligação aos esteroides existentes na membrana celular dos fungos, com resultante alteração da permeabilidade da membrana celular e extravasamento do conteúdo citoplasmático. Embora o medicamento tenha sido amplamente utilizado em via oral e tópica, e tratamento para micoses superficiais, por via intravenosa, a nistatina foi limitada pelos seus efeitos secundários tóxicos. Para superar estes problemas, a nistatina foi reformulada em um complexo lipídico que demonstrou efeitos secundários reduzidos, mantendo atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo* (SEVTAP *et al.*, 2002).

A nistatina é um dos mais antigos medicamentos antifúngicos, é usado hoje principalmente pela via oral para tratar a micose gastrointestinal e topicamente para candidíase mucocutânea, embora em grande parte foi substituído por outros medicamentos antifúngicos, tais como os azóis e anfotericina. Com a absorção do intestino ela se mostra insuficiente para produzir atividade sistêmica (MEYLER'S, 2016).

3.8 Outras fontes alternativas aos antifúngicos

Adicionalmente, a literatura também indica o potencial antifúngico que podem ser obtidos de extratos de microrganismos e de óleos vegetais. Apesar de quase 20.000 metabólitos microbianos e cerca de 100.000 produtos vegetais terem sido descritos, os metabólitos secundários de fontes naturais ainda parecem ser uma fonte inesgotável de novas moléculas com atividade antimicrobiana, antiviral, antitumoral e outras de interesse na farmacologia e agricultura (VICENTE *et al.*, 2003; WIŃSKA *et al.*, 2019).

Entre estes estão os óleos essenciais, que são líquidos aromáticos que evaporam quando expostos ao ar. Sua função envolve sinais de comunicação química com o meio, e neste contexto, o óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume - Lauraceae) é utilizado como flavorizante, aromatizante e conservante natural de alimentos. Este óleo pode ser extraído tanto da folha como da casca. Os compostos majoritários presentes no óleo essencial da canela são, entre 50 a 60% de cinamaldeídos e 4 a 7% de eugenol. Sabe-se que esses compostos apresentam a capacidade de interferir com a síntese de algumas enzimas nas bactérias além de provocarem danos à estrutura da parede bacteriana. Estudos mostraram a capacidade deste óleo de inibir o crescimento de fungos e bactérias. Em trabalho realizado por pesquisadores da UNESP, determinou-se a atividade antimicrobiana *in vitro* de quatro óleos essenciais, incluindo o óleo de canela sobre 7 leveduras e 14 bactérias. Os resultados obtidos demonstraram que, dentro dos parâmetros utilizados no experimento, os óleos essenciais de canela, juntamente de óleos essenciais de menta, tiveram maior atividade antimicrobiana (HOFMANN *et al.*, 1999; SOUZA *et al.*, 2014).

Outro estudo ainda demonstrou a ação antibacteriana *in vitro* de óleos essenciais de seis plantas, verificada por meio da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, isoladas de casos clínicos

humanos. O óleo essencial de canela foi o mais eficiente entre os avaliados (SILVA *et al.*, 2009).

Já extratos de plantas são preparações concentradas de várias composições e consistências possíveis. Destes, o extrato de *Pycnoporus sanguineus* (*P. sanguineus*) também conhecido como orelha de pau, é caracterizado por sua atividade antimicrobiana contra *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus* e diversos *Streptococcus spp.* (CUNHA *et al.*, 2016). As propriedades terapêuticas dos basidiomycetos são reconhecidas por milênios pelos povos orientais, sendo que os primeiros livros chineses sobre produtos naturais e medicinais, datam de 200 anos atrás. Assim, muitos estudos científicos foram conduzidos com basidiomas destes fungos, com a finalidade de isolar e identificar quimicamente as diversas substâncias ativas, e também determinar suas potencialidades terapêuticas. Dentre os metabólitos produzidos por esses fungos devemos destacar cinabarina, um derivado fenoxazínico com atividade antimicrobiana, encontrado em *P. sanguineus* (CUNHA *et al.*, 2016; ROSA *et al.*, 2005; VANDERLINDE & ONOFRE, 2010).

Finalmente, resíduos agrícolas e de processos biológicos oriundos da indústria ainda podem ser utilizados. Dentre estes, o furfural é produzido a partir de resíduos de processos da agricultura e que contenham xilana, contida nas paredes celulares de muitas plantas. Teoricamente, quase todos os tipos de pentosana contêm o material ou a combinação de materiais necessários à produção de furfural. O 5-HMF apresenta-se como uma plataforma química promissora oriunda de biomassa para produção de compostos químicos de alto valor agregado. Em particular, a produção de polímeros biorenováveis a partir de derivados de 5-HMF (5 hidroximetil-furfural), surgindo como uma abordagem atrativa e interessante para produção e substituição de polímeros comumente obtidos a partir de recursos fósseis (GALAVARNA & PASTRE, 2016). Sua atividade antimicrobiana foi observada em estudos como o de Chai *et al.* (2013) que mostram que os compostos podem inibir o crescimento de bactérias como *Salmonella* e *Bacillus subtilis*.

3.9 Resistência aos antifúngicos

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO), a resistência antimicrobiana ocorre quando os microrganismos sofrem alterações após a exposição a medicamentos. Isso faz com que eles desenvolvam resistência e, como resultado, as infecções não são mais inibidas ou suplantadas. A resistência aos antibióticos levou ao desenvolvimento de "supermicrorganismos" que são resistentes a muitas terapias antimicrobianas que, por sua vez, tem agravado o problema das infecções hospitalares (SINGHA *et al.*, 2017).

Os compostos antimicóticos são escassos e pouco efetivos. Para o tratamento de micoses dispunha-se apenas de griseofulvina e nistatina. Após surgiu a anfotericina, que apesar de tóxica, auxiliou de maneira importante o tratamento de micoses sistêmicas. Com o advento dos azoles tópicos como o miconazol e o clotrimazol e posteriormente os azoles sistêmicos como cetoconazol, itraconazol, fluconazol e voriconazol, o tratamento das micoses superficiais e sistêmicas se simplificou, melhorando as expectativas de cura destas infecções (MANZANO-GAIASSO *et al.*, 2008).

Um dos fatores que acentuam a resistência aos antifúngicos é também a formação do biofilme. Com o biofilme, a diminuição da susceptibilidade antimicrobiana aos antimicrobianos não é ligada a um único mecanismo de resistência, mas a uma sinergia de vários mecanismos. Devido à limitação de nutrientes, as células do biofilme têm uma taxa de crescimento mais lenta, o que reduz a sua susceptibilidade antimicrobiana e aumenta a transferência de genes no biofilme: as bactérias e fungos podem desenvolver resistência aos agentes antimicrobianos, ou por transferência horizontal de genes, seja mutações cromossômicas ou a expressão de genes de resistência no biofilme. Dessa forma, os antimicrobianos podem exercer uma seleção genética em favor das células mais resistentes no biofilme (BARBADORO *et al.*, 2015; GULATI & NOBILE, 2016).

3.10 Métodos de esterilização de materiais biomédicos

A esterilização é o processo de inativação dos microrganismos, a tal ponto que não seja mais possível detectá-los através de testes microbiológicos padrão. Existem normas que determinam como deve ser o processo de monitorização e por esse motivo é imprescindível no ambiente hospitalar. É necessário que os profissionais utilizem a monitorização segura nos processos de esterilização, uma vez que resguarda a vida dos pacientes e de todos que frequentam o ambiente hospitalar (SANTOS *et al.*, 2017).

O monitoramento para controle da qualidade de esterilização tem o objetivo de garantir a eficiência dos processos de esterilização. Na RDC nº 15, de 15 de março de 2012, os artigos 96 a 100 retratam com prioridade o monitoramento do processo de esterilização. A seguir são descritos alguns métodos eficazes de esterilização.

Segundo MORIYA (2011), o óxido de etileno (ETO) é um agente químico de alta eficiência no que se refere à esterilização de artigos médico-hospitalares, atua em baixas temperaturas (máximo 50°C) e possui alto poder de penetração, sem ser corrosivo. Ele apresenta grande eficácia na destruição de microrganismos formadores de esporos. Ganhou espaço na aplicação em instrumentos de uso intravenoso e cardiopulmonar, aparelhos de monitorização invasiva, instrumentos telescópios, materiais elétricos (eletrodos, fios elétricos) e marcapassos, entre diversos outros. Trata-se de um gás incolor, de poder virucida, bactericida e fungicida, sendo mais pesado que o ar, volátil, extremamente tóxico, inflamável, solúvel em água, éter, cetona e em pH ácido.

Já a utilização de plasma de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é outra tecnologia de esterilização de baixa temperatura (entre 45°C a 55°C). Assim como o óxido de etileno, esse método encontra grande aplicação em instrumentos e dispositivos médico-hospitalares. As suas propriedades oxidantes são capazes de destruir uma ampla gama de patógenos e apresenta como vantagem a rapidez no processo, já que a liberação do produto ocorre num intervalo de 30 minutos a 1 hora (MORIYA *et al.*, 2011).

Por fim, a autoclavagem, ou esterilização por calor úmido (vapor saturado sob pressão) atua desnaturando e coagulando as proteínas das células microbianas, mas com a vantagem de que a água presente contribui para a destruição das membranas e enzimas e induz à eliminação das ligações de hidrogênio, tornando assim o método mais eficaz e reduzindo o tempo de exposição dos materiais. Nesse tipo de equipamento, o material fica exposto ao vapor d'água sob pressão a 121°C durante 15 minutos. Uma fita indicadora também pode ser colocada em embalagens de produtos antes de iniciar o processo, para identificar que o material (ou o lote) foi submetido ao calor (NEVES *et al.*, 2004)

4 RESULTADOS

O item Resultados será apresentado na forma de um artigo científico intitulado **“AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE COMPOSTOS ELASTOMÉRICOS A FIM DE PREVENIR INFECÇÃO URINÁRIA POR *Candida sp.*”**, que será submetido a um periódico internacional.

4.1 ARTIGO

Evaluation of antifungal activity of elastomeric compounds to prevent urinary infection by *Candida sp.*

Author: Silvia Bohrer Oliva Steffens^{a*}

^aMaster's student, Graduate Program in Biotechnology, University of Caxias do Sul, Rua Jacob Luchesi, 4518, Caixas do Sul, RS, Brazil.

*Correspondence and reprints: silviabohrer@gmail.com

Abstract

Catheter-associated urinary tract infections represent are among the common causes of morbidity and mortality. Thus, we aim to develop biomaterials with different concentrations and types of antifungal additives as therapeutic options. A natural rubber (NR) was the polymer used for the incorporation of the additives. Antifungal activity was verified considering the *in vitro* inhibition of *C. albicans* and *C. tropicalis*. Elastomers produced with furfural and cinnamon oil were effective in the inhibition test and were tested for their physical chemical properties. Later different sterilization methods were tested. Fragments of the elastomer with and without cinnamon were vulcanized at 100°C and 150°C and tested against *C. albicans*. Vulcanization at 100°C was found to be more effective compared to 150°C showing significantly larger inhibition halos even in the elastomer without the addition of cinnamon essential oil. With autoclaving and hydrogen peroxide no inhibition halos were formed after the sterilization process however ethylene oxide sterilization the antimicrobial activity remained higher in vulcanized elastomer at 100°C. It was possible to develop an elastomer with biomedical potential capable of inhibiting fungal growth. Future studies should be performed in order to combine the inhibitory potentials with sterilization techniques.

Keywords: Biomaterial; Elastomeric Compound; Vulcanization; Sterilization; antifungal action.

1 Introduction

Urinary tract infections (UTI) caused by *Candida* spp. are becoming increasingly common in hospital settings. The association is greater in patients with prolonged urinary catheterization [1], a common procedure in hospitalizations. Patients who use long-term catheters are at risk for complications such as catheter obstruction, developing urinary tract stones, urethral infections, chronic renal inflammation, chronic bladder infections [2] and bladder cancer. Infections in these devices are estimated to occur in approximately 19% of patients, with 7% local infections and 12% cases of catheter-associated bacteremia [3,4]. According to Queirós et al [5], other risk factors for UTI associated with delayed bladder catheterization (DBC) are: advanced age, female gender, serious underlying diseases and indiscriminate use of antibiotics.

Biofilms are formed by bacteria and yeast forming a mixture of species that increase virulence and complicate the diagnosis and treatment of the patient. In particular the ability of *Candida* spp. forming biofilm on the surface is an important attribute in catheter-related infections which increase morbidity, mortality and medical costs. *Candida* spp. may enter the surface of the mucosae urinary tract which adhere to the urinary catheter and establish a biofilm this process in most patients is asymptomatic, however *Candida* could produce cystitis and it may reach the kidneys producing pyelonephritis [6-8].

According to the Infectious Diseases Society of America (IDSA), the first-line therapy for UTI is fluconazole mainly because of its favorable pharmacodynamic and kinetic properties over the second choice amphotericin B. However, recent reports highlight the increase resistance from fluconazole treatment. Notably, some *Candida*

fungi, such as *C. krusei*, are already resistant to fluconazole, alerting to the increase in resistance in this genus [9].

Recent studies show that essential oils such as cinnamon have the ability to inhibit fungal growth and biofilm formation [10]. In this context, in the present work, biomaterials have been developed as alternatives to overcome infections and biofilm problems incorporating antifungal substances such as the macro fungus *Pycnoporus sanguineus* furfural and cinnamon essential oil. Together the objective is to evaluate vulcanization and sterilization methodologies and their influence on the antifungal properties of the compounds used in order to develop urinary catheters in the future.

2 Materials and methods

2.1 Microorganisms

The microorganisms used for the inhibition tests were *Candida albicans* (ATCC 24433) and *Candida tropicalis* (ATCC 28707) both kindly provided by Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brazil).

2.2 Description of components of natural rubber

For the preparation of elastomers the following materials were used: Natural rubber, active zinc oxide (ZnO), phatic, sulfur, stearic acid, tetramethyl thiuram disulfide (TMTD) and antifungal agents to be incorporated later in the production of the elastomers described in Table 1. To compare to the elastomers produced it has been used a 2-way Sterile Siliconized Latex Foley Probe number 12 (Solidor, Brazil).

2.3 Tested Substances and Solutions for Antifungal Ability

2.3.1 Obtaining *Pycnoporus sanguineus* Extract

To obtain *P. Sanguineus* extract *P. sanguineus* basidiomas (Agaricomycetes) were initially dehydrated at 60 ° C until constant mass. Afterwards the basidiomas were ground in a knife mill until a sufficient amount was obtained to prepare the extracts. A 10%

extraction was performed under reflux using 70% ethanol at 90 ° C for 30 minutes. Subsequently a further extraction with distilled water was made using the filtration residue at 100 ° C for 1 hour. The filtrates were rotavapped and stored at -80 ° C protected from light. The concentrations used were 0.05 mg / mL, 0.1 mg / mL and 0.2 mg / mL for the preparation of Sabouraud agar media for screening tests.

2.3.2 *Cinnamon Essential Oil*

Cinnamon essential oil solutions (commercially acquired from Oshadhi brand essential oils-Brazil) diluted in Sabouraud agar media were obtained for the analyzes obtaining concentrations of 1 and 3% (v / v).

2.3.3 *5-(hidroximetil) furfural) Solution*

The compound was obtained commercially (Sigma-Aldrich - Brazil). Solvent solutions were obtained to obtain 6.25 mmol and 12.5 mmol concentrations used for the preparation of Sabouraud agar media.

2.3.4 *Applied Commercial Antifungals*

Amphotericin B, fluconazole, itraconazole, ketoconazole and nystatin were commercially purchased from PharmaNostra (Brazil) and added to Sabouraud agar media. The following concentrations used were 250, 500 and 1000 µg/mL amphotericin B, 50, 75 and 100 µg/mL fluconazole, 50, 75 and 100 µg/mL itraconazole, 1,4, 2,1 and 2,8 µg/mL ketoconazole and 1, 5 and 10 µg/mL nystatin.

2.4 Determination of Antifungal Activity

Antifungal activity was verified by plating method performed by incorporating antifungal concentrations into culture medium in the form of Sabouraud agar which was distributed in individual petri dishes.

To determine antifungal activity the fungi were diluted in 0.9% sterile saline following the Mac Farland 0.5 turbidity standard. Next, the previously described antifungal concentrations were added to the Sabouraud agar culture medium. Then with the aid of a Drigasli handle the fungal suspensions were sown over the entire surface of the medium. The plates were then incubated at 30°C for 48h. After this period, the colonies were counted and the result was expressed as a percentage of colonies compared to the control group.

After the elastomers were finished with cinnamon oil, 0.5x0.5 fragments of the artifact were placed in Petri dishes with *C.albicans* fungal suspension on Sabouraud agar following the Mac Farland 0.5 scale standard. After 48 hours at a temperature of 34°C. After this period, the inhibition halos were measured using a caliper.

2.5 Elastomeric Compound Development

The elastomeric compounds were developed in a MH (Brazil) open mixer at 65°C for 10 minutes. Initially the elastomer was plasticized and acceleration activators were added in the following sequence: Factic, antifungal additive, accelerator and sulfur. The optimum vulcanization time (t_{90}) of the compounds was evaluated on a Tech Pro

oscillating disc rheometer Rheotech OD + (Brazil) according to ASTM D 2084-06, creep amplitude 1°, and frequency 1, 67 Hz with a sample of approximately 6 g at different temperatures: 100°C and 150°C. The t₉₀ of vulcanization at 100°C was 60 minutes and at 150°C was 5 minutes. The samples were vulcanized by compression molding in ASTM D hydraulic press. Cinnamon essential oil was added with 1% and 3% oil over the amount of formulation elastomer in the open mixer with the control compound without use of cinnamon essential oil.

2.6 Characterization of additives and elastomeric compounds

2.6.1 Results of Elastomer Thermogravimetric Analysis (TGA)

Thermogravimetric analysis was performed on a Shimadzu TGA-50 thermogravimetric analyzer (Japan). The heating rate used was 10°C min⁻¹ and under 50 mL min⁻¹ nitrogen flow in the temperature range between 20°C and 800°C. For this analysis elastomer samples containing cinnamon essential oil were prepared after the elastomers control of 1% and 3% cinnamon at 100°C and 150°C vulcanization. Only 1 and 3% cinnamon essential oil were incorporated into the elastomers, due to their higher degradation temperature. Furfural was not incorporated into the elastomer due to its degradation temperature below 120°C.

2.6.2 Fourier Transform Spectroscopy (FTIR) Test

The chemical structure of the materials was evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy. Infrared spectroscopy was performed using the attenuated total

reflectance (ATR) technique on a Thermo Scientific (United States) model Nicolet IS10, where each spectrum was obtained by the performance of 32 scans between 4000 cm⁻¹ and 400 cm⁻¹. The analysis was performed on a sample of an elastomer containing 0%, 1% and 3% cinnamon essential oil.

2.6.3 Elastomer production and antifungal activity evaluation

After the characterization of the elastomeric compounds the samples were cut into small 0.5 × 0.5 cm fragments and sent to the sterilization process for later testing with the fungi.

Three types of sterilization were performed on all samples produced. Esterilizare (Brazil) performed sterilization with ethylene oxide. Hydrogen peroxide sterilization was performed at the Pompéia Hospital Materials and Sterilization Center. Autoclave sterilization was performed at the Institute of Biotechnology of the University of Caxias do Sul (in 15 minutes at 1 ATM pressure).

For the antifungal growth inhibition test the following samples were coded as follows in Table 2.

After elastomer production, sterilization and / or disinfection process, the fragments were placed in Petri dishes containing *C. albicans* and seeded according to 0.5 McFarland scale. All groups were tested in triplicate and evaluated 48 hours at 36 ° C after seeding. For this the inhibition zone was measured using a caliper.

2.7 Statistical analysis

Antifungal activity, mechanical analysis and antifungal activity tests of the elastomers were compared using One-Way ANOVA followed by post hoc Tukey. Results are presented as average with their standard error. P values of <0.05 were considered statistically significant.

3 Results

3.1 Determination of antifungal agent concentrations

P. Sanguineus extract and amphotericin were not effective to inhibit the growth of both evaluated yeasts with significant yeast growth and with a colony percentage similar to the control group in all tested concentrations of 0.05. mg/mL to 5 mg/mL. The inhibitory activity of the commercial amphotericin B antifungal was more effective only at the concentration of 1000 µg/mL in both yeasts. For *C. Albicans* the ketoconazole antifungal agent totally inhibited growth at concentrations above 2.8 µg / mL and was quite effective at concentrations of 2.1 µg/mL and 1.4 µg/mL. The other antifungals tested completely inhibited the growth of both *C. albicans* and *C. tropicalis* in different concentrations being 1 µg/mL, 5 µg/mL and 10 µg/mL for nystatin 50 µg/mL, 75 µg/mL and 100 µg/mL for fluconazole, 50µg/mL, 75 µg/mL and 100 µg/mL for itraconazole, 6.25 mmol/L for furfural (according to Table 1 of supplemental material) and 1%, 3% and 5% for Cinnamon essential oil. These data are presented in Fig. 1 and 2.

3.2 Antifungal activity after incorporation of antifungal compounds into elastomers and different sterilization methods

Antifungal activity after incorporation of antifungal compounds into the elastomeric compound was quite variable and was influenced by vulcanization and sterilization/disinfection processes. Fig. 3 demonstrates these results where vulcanization at 100°C with and without cinnamon essential oil had less significant influence on the antifungal activity of the oil compared to vulcanization at 150°C. In the latter, significantly larger inhibition halos could be observed, even in the elastomer without cinnamon addition.

Fig. 4 shows the effect of different sterilization methods on the antifungal activity of cinnamon essential oil, showing that the form of ethylene oxide sterilization had the least influence on the antimicrobial activity of the elastomer. In 3% oil elastomers vulcanized at 100°C and 150°C, as well as in the vulcanized elastomer at 150°C without oil, no growth inhibition halo was evidenced.

4 Discussion

There are currently few antifungal options available on the market for treating urinary tract infections. Increased antifungal resistance warns of the need to develop new strategies to prevent their spread [9]. Thus, three different compounds of natural origin were tested as potential antifungal agents against *C. albicans* and *C. tropicalis*, important microorganisms responsible for urinary tract diseases due to the use of bladder probes.

It can be verified that of the tested compounds *P. sanguineus* extract showed no antifungal activity at the tested concentrations, being comparable to the control group, where no compounds with antifungal activity were used. Furfural and cinnamon essential oil were effective against the yeasts tested. The ability of cinnamon essential oil to exert antimicrobial and antifungal activity was already known. In a study by Jham et al [11] it was found that the oil has inhibitory activity in the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus ruber* and can be used as a marker for standardization of natural preservatives for stored seeds. Also, Reichling et al [12](2009) demonstrated antimicrobial activity of *Cinnamomum verum* (shin) aqueous extract against *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*, agents also present in urinary tract

infections. Additionally, the study by Banu et al [10] showed that essential oils, including cinnamon essential oil, inhibited microorganisms and even biofilm formation.

Thermogravimetric analysis showed that cinnamon essential oil remained stable at temperatures above 150°C the highest temperature at which vulcanization of rubbers occurs, unlike furfural, which at 120°C was completely degraded, with an ash content of 0.6%. Another important information that can be obtained based on the TGA analysis is that cinnamon essential oil is a pure compound, as there is only one decomposition temperature, demonstrated by the TGA curve derivative at 435.6°C. Based on these results, subsequent tests were performed only with this oil.

Furthermore, it can be verified that the elastomers with and without the cinnamon essential oil analyzed did not have similar decomposition onset temperature, ranging from 270 to 310°C. The addition of oil seems to decrease the onset temperature of biomaterial decomposition. However, all decomposition temperatures were higher than the vulcanization temperature required for biomaterial production. In addition, the ash content at 500°C is also similar in the different groups tested, except for the sample containing 1% vulcanized cinnamon essential oil at 150°C which had an ash content of approximately 10%. However, there was no statistical difference between the analyzed samples and all showed thermal stability against the different vulcanization temperatures employed.

The obtained rubbers were easily handled and with similar mechanical characteristics, regardless of the concentration of cinnamon essential oil incorporated. Mechanical characteristics are extremely important for development of materials for biomedical purposes as they will be handled by health professionals for application to patients, as well as, for the purpose of bladder catheter will be in contact with the human body for prolonged periods, subjected to a more acidic pH, normal for urine.

Regarding the results of the mechanical analysis performed the ultimate elongation was the test that showed the largest variation among the tested samples without having a correlation between the different groups. The same was not observed for the other tests performed. As can be seen, the elastic modulus of the developed samples was similar to the commercial probe which demonstrates a good malleability of the materials produced. In the tests of maximum tension it is noticed that the elastomers resist a higher maximum tension than the commercial probe conferring an advantage in the handling by health professionals and in the use by patients with bladder probe.

Hardness is associated with the amount of cross-links formed during the vulcanization process and is also directly affected by the amount of sulfur present. In this study 2.2 parts per hundred sulfur rubber (phr) were used in all produced rubbers. As all groups have the same amount of sulfur in the samples, it was assumed that the vulcanization time could modify this property in the elastomers. In the graph in Fig. S4 (supplementary material) it was found that vulcanization time had no significant effect on the hardness of the compounds and it is suggested that crosslinking for the production of natural rubber elastomer had already maximized at 100°C, not having undergone more changes at higher temperatures.

Thus, the developed materials have demonstrated that they have similar and even better characteristics in relation to the commercial probe as can be seen in the modulus of maximum tension and elongation until rupture, which allows them to be manipulated for biomedical application purposes.

FTIR analysis was performed to verify the incorporation of cinnamon essential oil into elastomers. As can be seen, the analysis was made more difficult by the presence of bands referring to natural rubber at also relative and characteristic wavelengths of cinnamon oil. However, in the elastomers containing the different concentrations of

cinnamon oil there was an increase in the band of the region of 1540 cm^{-1} , referring to a stretch of the $\text{C} = \text{C}$ bond present in both oil and elastomer. However, the absorbance of elastomers containing cinnamon

essential oil was higher than that found in non-oil elastomers. In addition, the 1727 cm^{-1} band corresponding to saturated fat aldehyde and high levels of cinnamaldehyde and aldehydes in volatile cinnamon oil is visible in cinnamon-containing elastomers and is absent in non-cinnamon elastomers [13]. Thus, the presence of cinnamon essential oil is evidenced in the developed elastomers.

Having performed the physical-chemical characterization of the developed materials it was started to analyze the antifungal activity of the elastomers. For this, in addition to the different concentrations of cinnamon essential oil incorporated in the rubber different types of sterilization methods were also tested: humid heat (autoclaving), ethylene oxide and hydrogen peroxide plasma. These treatments ensure efficient sterilization of the materials, enabling them for later use *in vivo*. These techniques allow the reduction of bacteria, bacterial endospores and fungi. The results obtained with hydrogen peroxide and autoclave were negative, since they resulted in inactivity of antifungal compounds. However, the ethylene oxide sterilized elastomer partially maintained its antimicrobial activity with cinnamon essential oil at 1% and 3%, but did not inhibit growth in the material without the oil.

Furthermore, it was observed that even rubber without the addition of cinnamon oil exerted inhibitory power, suggesting that one of the compounds of the elastomer formulation itself, such as sulfur, for example, is exerting inhibitory power of microbial growth. Although the conservative power of sulfur dioxide in foods is known, little is known about the mechanism of action of sulfur dioxide and derivatives on microorganisms. The undissociated form of sulfuric acid (H_2SO_3) is believed to be

responsible for antimicrobial activity due to the greater ease of penetration through cell membranes. This fact is supported by the higher efficiency of these compounds at low pH. Another hypothesis is that antimicrobial activity occurs due to its strong reducing power by reducing oxygen pressure to a point below that required by aerobic microorganisms or by direct action on the enzyme system. The pH of the product is probably the property that most influences the antimicrobial action of sulfur dioxide and derived salts [14].

Despite the effectiveness of the sterilization methods employed, they can cause changes in material properties [15]. Thus, it is believed that these methods participated in the antifungal ineffectiveness of the oil tested, as they may have caused structural changes in the elastomer and cinnamon essential oil incorporated in it, the form of ethylene oxide sterilization was the least influenced on antimicrobial activity of the elastomer.

In conclusion, through this work it was possible to carry out a study of antifungal potentials as a therapeutic option to commercially existing drugs. In addition, cinnamon essential oil elastomers were effective against *C. albicans* yeast, even after vulcanization and ethylene oxide sterilization. Thus, a biomedical potential elastomer was developed for later use in impregnated urinary catheters, thus avoiding fungal contamination in the urethra.

Conflict of interest

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript. The author declares no competing interests.

Acknowledgements

First of all, I thank God, the author of all things, without Him I certainly would not have made it this far...

I thank my daughters Alice and Aurora, through her smile I gain strength to overcome any obstacle...

I thank my husband Guilherme, who has always supported me and often helped in the elaboration of this project, my eternal love to you.

I thank Daniela Steffens Vergani, who promptly offered help to me with my doubts and certainly contributed to the realization of this dream, her help was essential.

I thank all my family members in general, as they are my foundation.

I thank my mother Elenita (in memorian), because all my conquests are dedicated to her, my example of strength and overcoming in moments of anguish and difficulties.

I thank the masters of this Program for all the knowledge transmitted.

References

[1] HOLLENBEAK, C.S., SCHILLING, A.L. The attributable cost of catheter-associated urinary tract infections in the United States: A systematic review. *Am J Infect Control* 2018; 46(7):751-57.

[2] SAINT S, TRAUTNER BW, FOWLER KE, COLOZZI J, RATZ D, LESCINSKAS E, et al. A Multicenter Study of Patient-Reported Infectious and Noninfectious Complications Associated With Indwelling Urethral Catheters. *JAMA Intern Med* 2018;178(8):1078-85.

[3] RISHPANA MS, KABBIN J.S. Candiduria in Catheter Associated Urinary Tract Infection with Special Reference to Biofilm Production. J Clin Diagn Res 2015;9(10):11-3.

[4] THOMÉ, IS. Avaliação in vitro da utilização de cateteres urinários com aditivo antimicrobiano, Tese de mestrado; Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, 99 páginas, 2007.

[5] QUEIRÓS MI, SANTOS MCL, CARDOSO MVLM. Urinary infections and use of indwelling bladder catheter in pediatric unit. Rev RENE 2011;12(2):295-301.

[6] KO KS, LEE J, SONG J, PECK K. In vitro Evaluation of Antibiotic Lock Technique for the Treatment of *Candida albicans*, *C. glabrata*, and *C. tropicalis* Biofilms. J Korean Med Sci 2010;25(12):1722-26.

[7] NETT JE, BROOKS EG, CABEZAS-OLCOZ J, SANCHEZ H, ZARNOWSKI R, MARCHILLO K et al. Rat Indwelling Urinary Catheter Model of *Candida albicans* Biofilm Infection. Infect Immun. 2014;82(12):4931–40.

[8] SEGHIR A, BOUCHERIT-OTMANI Z, SARI-BELKHARROUBI L, BOUCHERIT K. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (*Candida* -bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. J Mycol Med 2017;27:20-7.

[9] ALFOUZAN WAM. Epidemiological Study on Species Identification and Susceptibility Profile of *Candida* in Urine. Fungal Genom Biol 2015;5(2).

- [10] BANU FS, RUBINI S, SHANMUGAVELAM P, MURUGAN S, GOWRISHANKAR S; PANDIAN KS et al. Effects of patchouli and cinnamon essential oils on biofilm and hiphae formation by *Candida* species. J Mycol Med 2018;28(2):332-9.
- [11] JHAM GN, DHINGRA OD, JARDIM CM, VALENTE VMM. Identification of the Major Fungitoxic Component of Cinnamon Bark Oil. Fitopatol Bras 2005;30(4):404-8.
- [12] Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. Forsch Komplementmed 2009;16(2):79-90.
- [13] LI Y, KONG D, HONG W. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. Industrial Crops & Products 2013;41:269-78.
- [14] MAIA GA, LIMA AS, FREITAS ASC. Aplicações do dióxido de enxofre na manutenção da qualidade de sucos de frutas tropicais. Rev Inst Adolfo Lutz 2006;65(1):1-6.
- [15] HOLY C, CHENG C, DAVIES J, SCHOICHET MS. Optimizing the sterilization of PLGA scaffolds for use in tissue engineering. Biomaterials 2001;22:25-31.

Legends to figures

Figure 1: Antifungal activity of compounds against *C. albicans* yeast. Compounds with letter 'a' showed no statistical difference. Performed in Petri dishes in Sabouraud medium at different concentrations of antifungals incubated at 37 ° C for 48 hours, after reading the number of colonies and the result expressed as a percentage of number of colonies, compared to the control group. ** p <0.01; *** p <0.001.

Figure 2: Antifungal activity of compounds against yeast *C. tropicalis*. Compounds with letter 'a' showed no statistical difference. Performed in Petri dishes in Sabouraud medium at different antifungal concentrations incubated at 37°C for 48 hours, after reading the number of colonies and the result expressed as a percentage of number of colonies, compared to the control group. ** p<0,01; *** p<0,001 .

Figure 3. *C. albicans* growth inhibition test with vulcanized elastomers at 100°C and 150°C, with different concentrations of cinnamon essential oil.

Figure 4. Growth inhibition test performed with *C. albicans* with ethylene oxide sterilized elastomers, hydrogen peroxide plasma and autoclave, with vulcanized elastomers at 100°C and 150°C, with different concentrations of cinnamon essential oil.

Tables

Table 1: Description of components, proportions and functions of constituents of natural rubber.

Compounds	Phr	Compound Function
Natural Rubber	100	Base elastomer
Stearic acid	0,5	Process Assistant
Active ZnO	1,0	Throttle Activator
Factice	10	Vegetable load
TMTD	0,5	Vulcanization Accelerator
Sulfur	2,2	Vulcanization Agent

Table 2: Elastomers produced for antifungal activity evaluation with their respective vulcanization and sterilization methods.

V100°C	V150°C	V100°C	V100°C	V100°C	V150°C	V150°C	V150°C
Non-sterile	Non-sterile	Hydrogen peroxide	ETO	Autoclave	Peróxido de Hidrogênio	Autoclave	ETO
Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%	Cinnamone essential oil 1%
Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%	Cinnamone essential oil 3%
Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone	Essential oil without cinnamone

V – Vulcanization; ETO – Ethylene oxide

Figures

Figure 1:

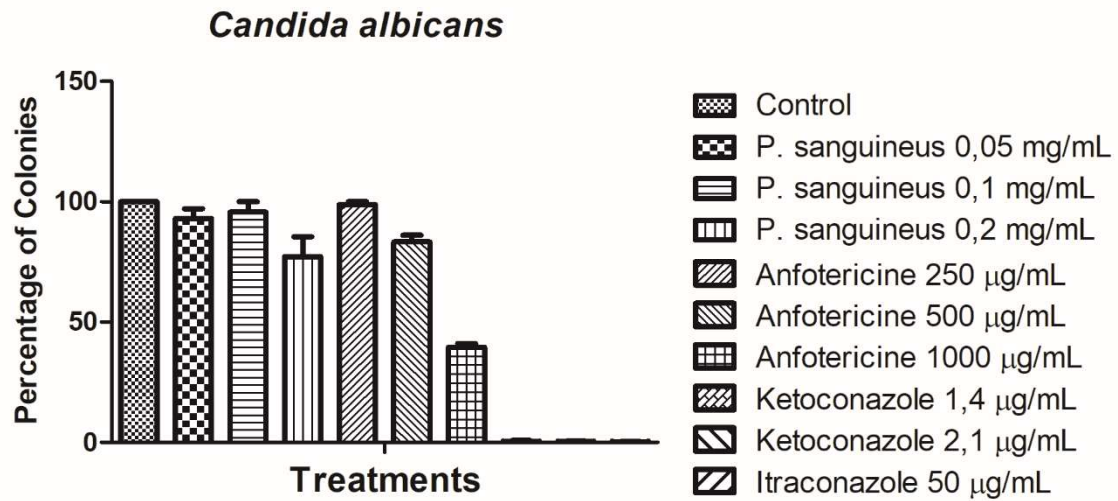


Figure 2:

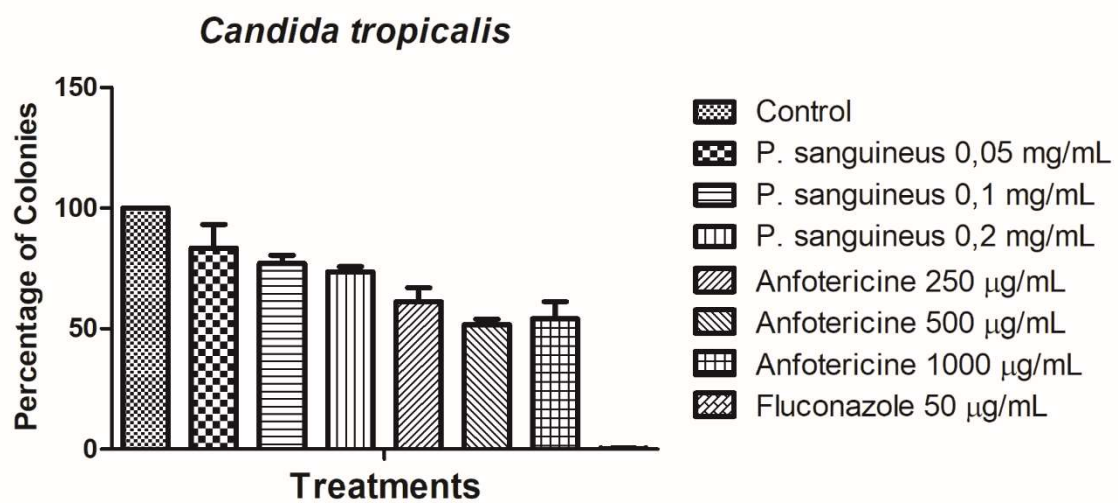


Figure 3:

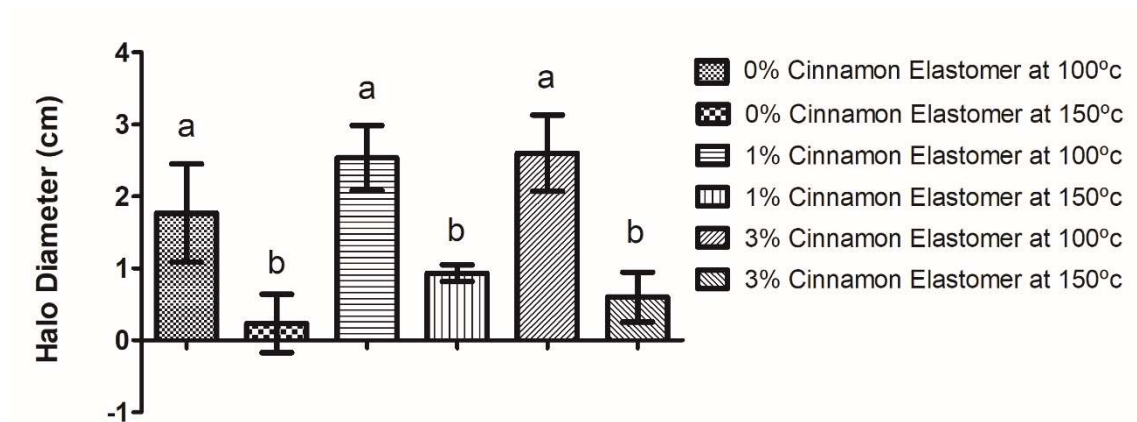
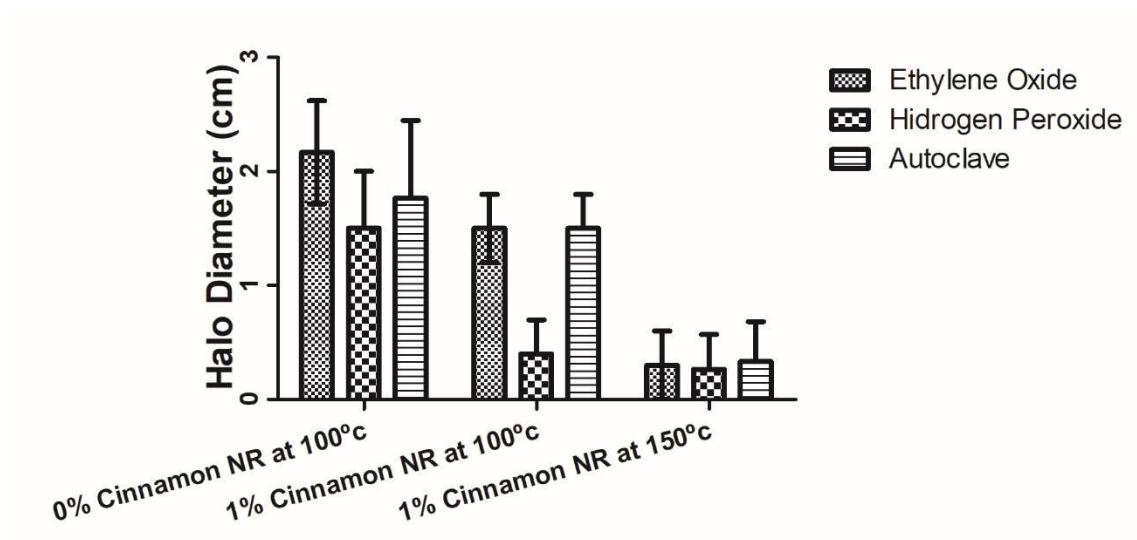


Figure 4:



Supplementary material**Table 1. Yeast growth inhibition in furfural percentage in *C. albicans* and *C. tropicalis***

YEAST	CONTROL	FURFURAL INHIBIT 6.25 mmol (%)	FURFURAL INHIBIT 12.5 mmol (%)
<i>C.albicans</i>	100%	0%	0%
<i>C.tropicalis</i>	100%	0%	0%

Figure S1: Thermogravimetric analysis of furfural and cinnamon oil generated by Microcal Origin software.

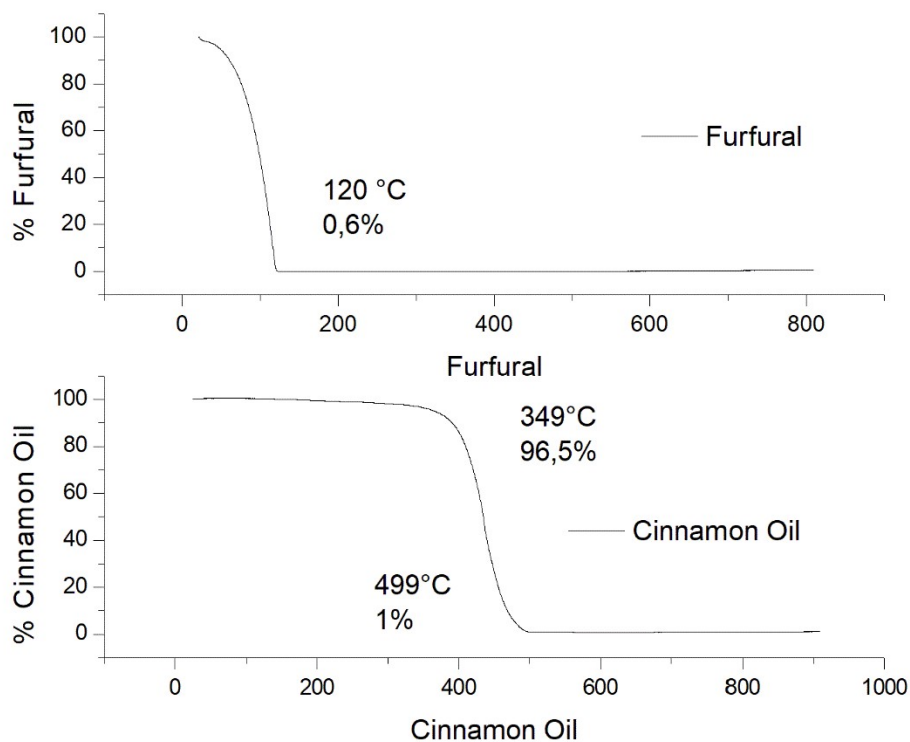
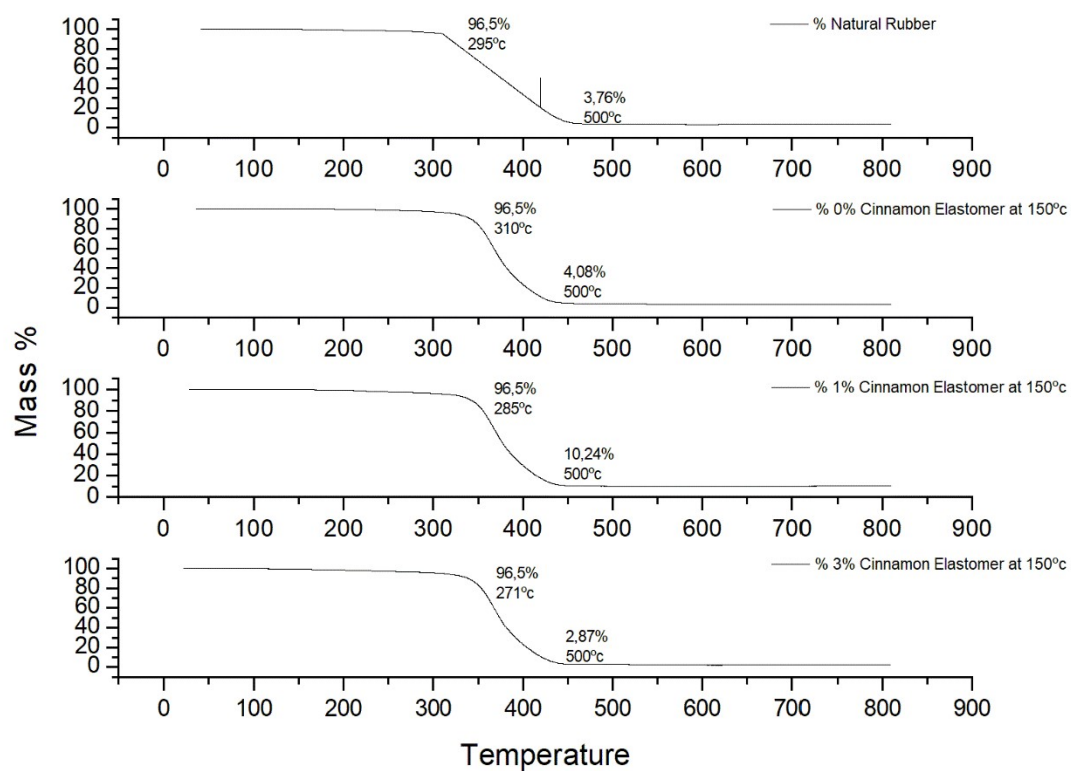


Figure S1 shows the first derivative of the cinnamon oil TGA curve. The decomposition temperature of the cinnamon essential oil was found to be 435.6°C. Cinnamon essential oil began to decompose at 349°C with a single mass loss event with a maximum temperature of 433.6°C.

Figure S2: Thermogravimetric analysis (TGA) of vulcanized elastomers at 100°C and 150°C, with different concentrations of cinnamon essential oil.

a) 150°C



100°C

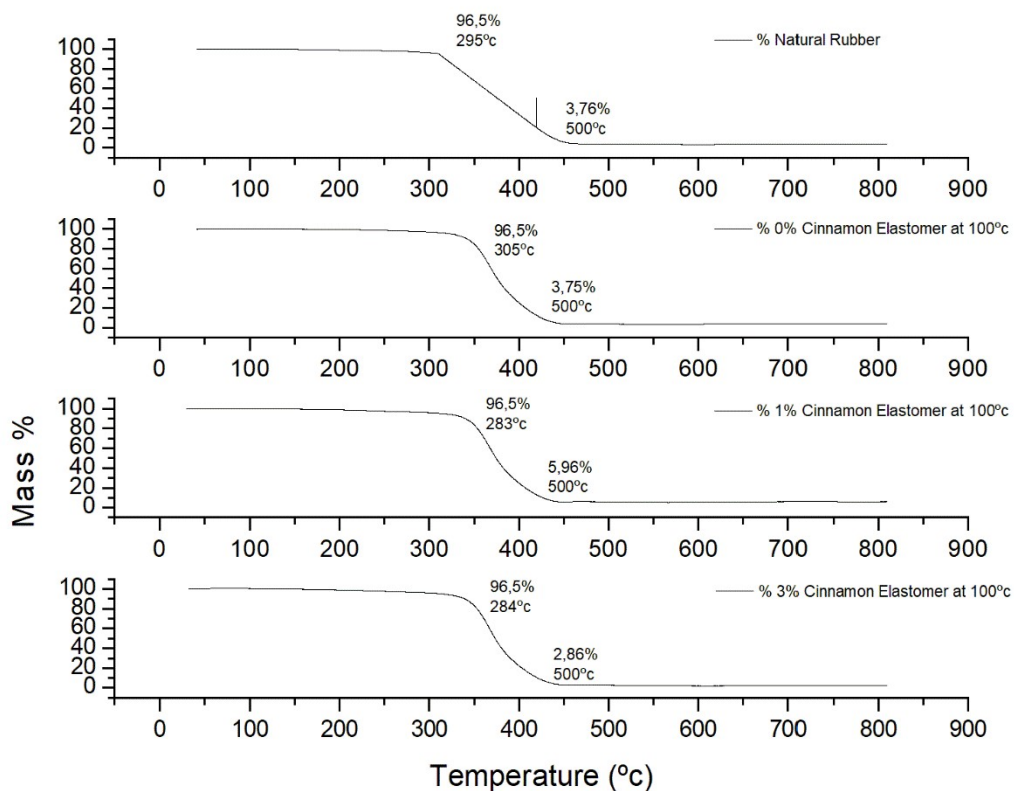


Figure S2 presents the thermogravimetric analysis of elastomers with and without cinnamon essential oil, showing their degradation. Considering vulcanization temperature for the control compound without cinnamon essential oil the vulcanized compound at 150°C showed higher thermal stability starting its mass loss event at 310°C. Stability has been found to decrease for the vulcanized compound at 100°C and thermal stability decreases with increasing cinnamon content. The higher the essential oil content of cinnamon the lower the thermal stability of the compound.

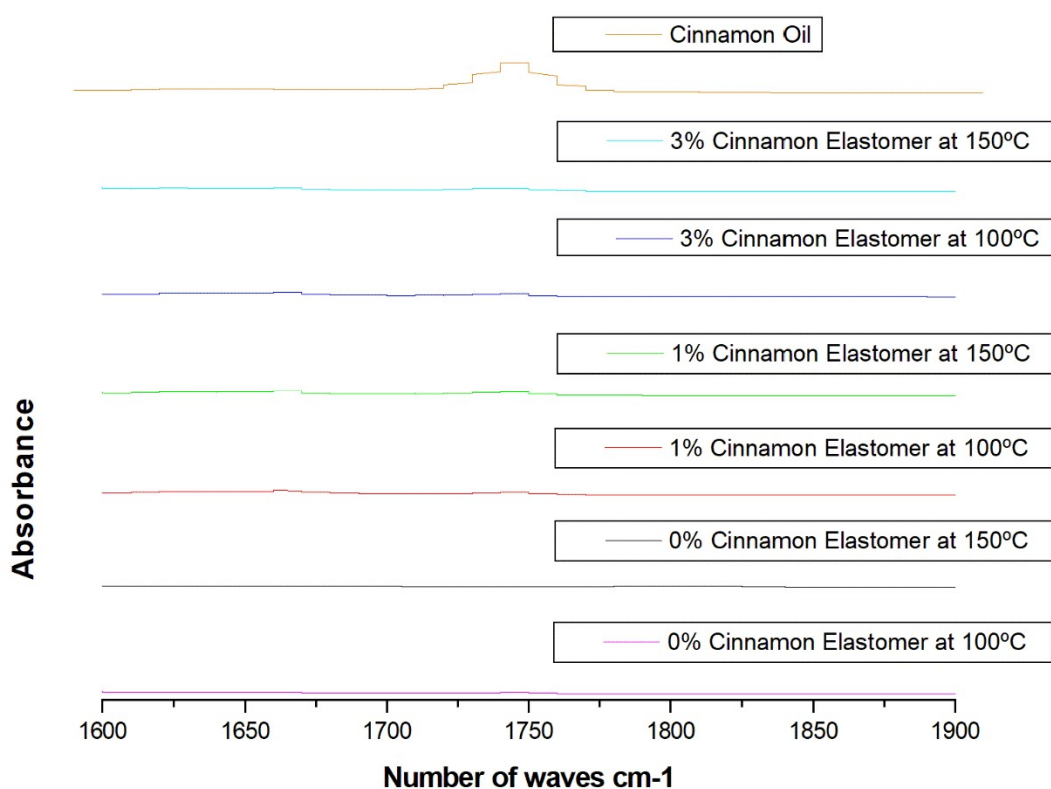
Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

Fig. S3 shows the infrared spectroscopy analysis of cinnamon oil and elastomer samples containing the different cinnamon oil contents tested. The assignments corresponding to the main bands according to Silverstein's table (1991) were 2960 cm^{-1} in the C-H bond stretch band of the olefinic carbon. In the region of 2920 and 2850 cm^{-1} , the asymmetric and symmetrical stretching of the methyl group was found. In the region of 1450 and 1380 cm^{-1} , the asymmetric and symmetrical angular deformation of the methyl group was verified. In the 1540 cm^{-1} region, a C = C-bond stretch was observed and finally in the 800 cm^{-1} region the band attributed to the flexion of the C-H-bond in trisubstituted olefin typical of cis-1,4 chaining. The bands 1250 , 1100 and 1020 cm^{-1} are attributed respectively to off-plane and out-of-phase angular deformation of the methylene group axial deformation of the C-CH₂ bond in the plane. All compounds had the bands corresponding to poly (cis-1,4-isoprene). The cinnamon essential oil spectrum has a band at 1727 cm^{-1} , corresponding to the aldehyde of a saturated fat. This peak corresponds to high levels of cinnamaldehyde and aldehydes in volatile cinnamon oil. The band at 1450 cm^{-1} had the characteristics of an alcohol C-OH within flexural vibration absorption. The 1124 cm^{-1} and 1070 cm^{-1} bands were attributed to the C-O stretch vibrations and the C-OH strain vibration. The band at 685 cm^{-1} corresponded to the vibration absorption of alkenes.

When comparing the spectra of the elastomeric compounds with the spectrum of the cinnamon essential oil the overlapping of the oil bands was found. The observed changes that could be observed are from the spectrum of NR 1% cinnamon essential oil where the band at 1727 cm^{-1} corresponding to cinnamaldehyde had increased intensity when compared to the spectra NR 0% of essential oil of cinnamon. In addition, it was found that the vulcanization process caused the moisture contained in the cinnamon

essential oil to disappear, peaked at 3410 cm^{-1} of the oil spectrum. The 1660 cm^{-1} stretch for $\text{-C}=\text{C-}$ shows the presence of cinnamaldehyde in the sample (LI, 2013).

Figure S3: FTIR spectrum of cinnamon essential oil samples, with vulcanized elastomers at 100°C and 150°C , with different oil concentrations.



Mechanical Analysis of Elastomeric Compound

Fig. S4 shows the mechanical properties of cinnamon oil and non-cinnamon oil elastomers with their different concentrations and vulcanization at 100°C and 150°C . As can be seen, the rupture elongation test (Fig. S4A) showed significant differences from

the commercial probe showing considerable variation after the addition of cinnamon essential oil. The elastomers with the oil showed a small percentage of elongation in relation to the commercial probe and the elastomers without the oil.

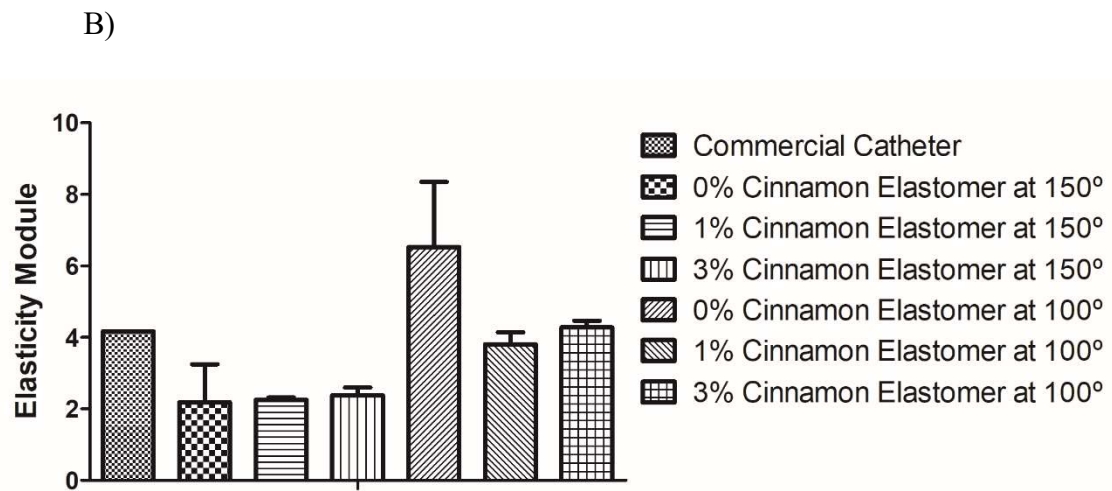
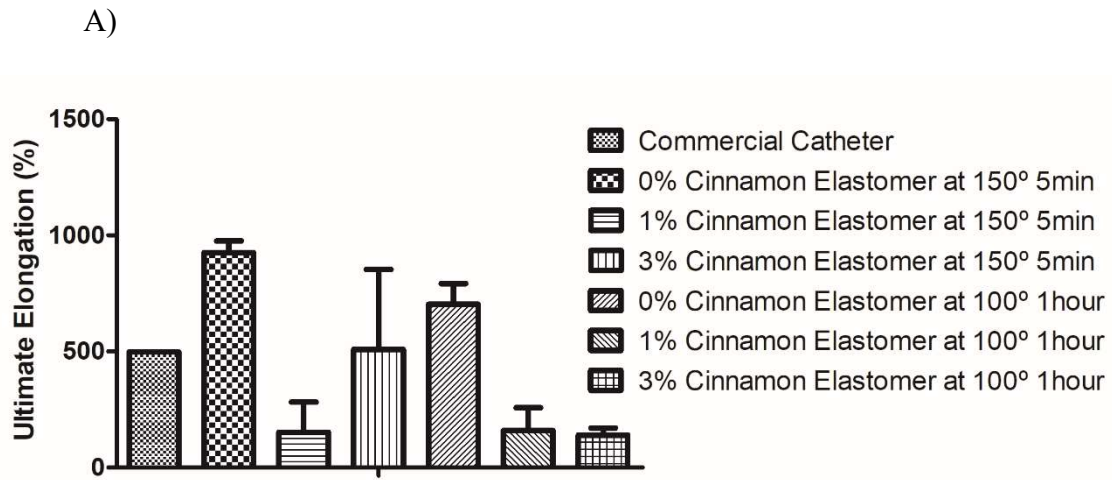
In the modulus of elasticity test (Fig. S4B), although the average values presented were different, the high values of the standard deviations do not allow to affirm that differences occurred except for the value presented for the elastomer without vulcanized cinnamon essential oil at 100 ° C compared to vulcanized at 150 ° C with 1% of the oil which were statistically different.

No modulus of elasticity tests (Fig. S4B) although the mean values shown are different, the high deviation values will not be performed because of sample differences except for the value evaluated for the elastomer without the 100 ° vulcanization essential oil. C compared to the vulcanized at 150 ° C with 1% oil which is statistically different.

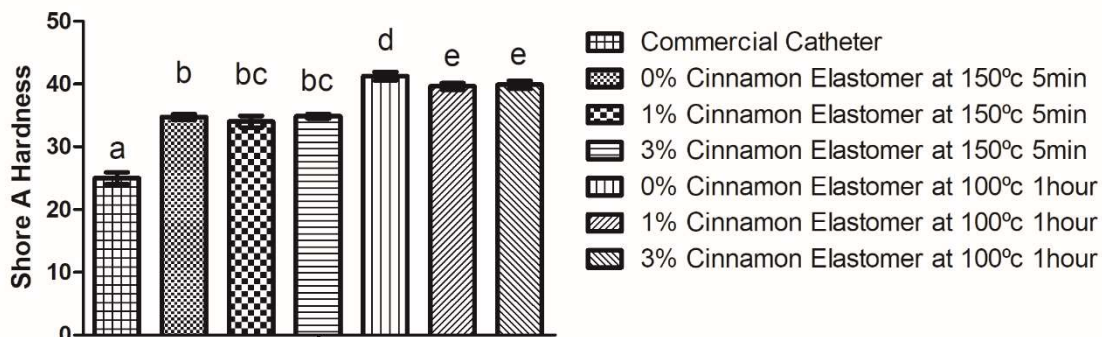
The Shore Hardness modulus (Fig. S4C) showed divergent results in the cinnamon essential oil elastomers and in the oil-free elastomers. while the oil elastomers reached 35 hardness.

Maximum stress tests (Fig. S4D) showed that elastomers at 100°C vulcanization have a higher maximum tensile strength at break than those vulcanized at 150°C with or without cinnamon essential oil. The commercial probe proved to be inferior to all elastomers, not reaching 5Mpa.

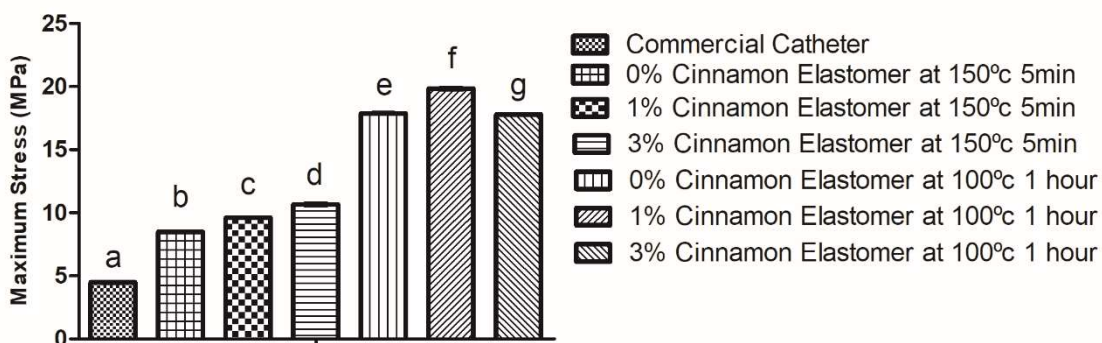
Figure S4. A) Ultimate Elongation; B) Elasticity Module; C) Shore hardness and D) Maximum stress of samples with vulcanized elastomers at 100°C and 150°C, with different concentrations of cinnamon essential oil.



C)



D)



5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes de atividade antifúngica, análises mecânicas e atividade antifúngica dos elastômeros foram comparados usando One-Way ANOVA seguido pelo *post hoc* Tukey. Os resultados são apresentados como média com o respectivo erro padrão. $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

6 RESULTADOS

6.1 Determinação das concentrações de agentes antifúngicos

O extrato de *P. Sanguineus* e a anfotericina não foram efetivos para a inibição do crescimento de ambas as leveduras avaliadas, havendo crescimento significativo de leveduras, com percentual de número de colônias semelhante ao grupo controle, em todas as concentrações testadas, de 0,05 mg/mL até 5 mg/mL. A atividade inibitória do antifúngico comercial anfotericina B mostrou-se mais efetiva somente na concentração de 1000 µg/mL, em ambas as leveduras. Para *C. albicans*, o antifúngico cetoconazol inibiu totalmente o crescimento em concentrações acima de 2,8 µg/mL, sendo bastante efetivo nas concentrações de 2,1 µg/mL e 1,4 µg/mL. Os demais antifúngicos testados inibiram completamente o crescimento tanto de *C. albicans* como de *C. tropicalis* em concentrações distintas, sendo 1 µg/mL, 5 µg/mL e 10 µg/mL para nistatina, 50 µg/mL, 75 µg/mL e 100 µg/mL para fluconazol, 50 µg/mL, 75 µg/mL e 100 µg/mL para itraconazol, 6,25 mmol/L para furfural (conforme Tabela 1 do material suplementar) e 1%, 3% e 5% para óleo essencial de canela. Estes dados estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

Figura 1: Atividade antifúngica dos compostos frente à levedura *C. albicans*. Compostos com letra 'a' não apresentaram diferença estatística. Realizado em placas de Petri, em meio Sabouraud em diferentes concentrações dos antifúngicos incubadas à 37°C por 48 horas, após realizado a leitura do número de colônias e o resultado expresso como percentual de número de colônias, comparado ao grupo controle. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

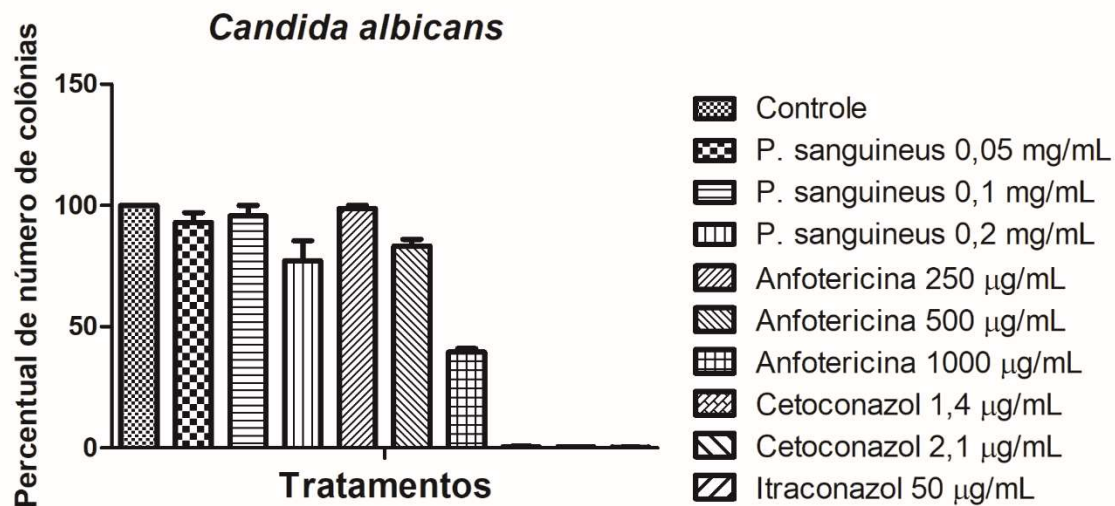
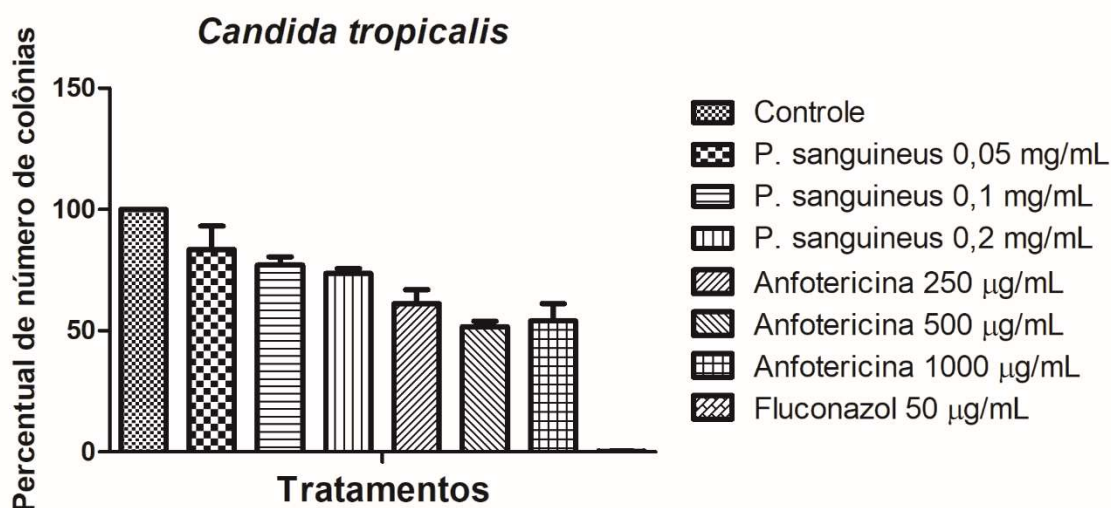


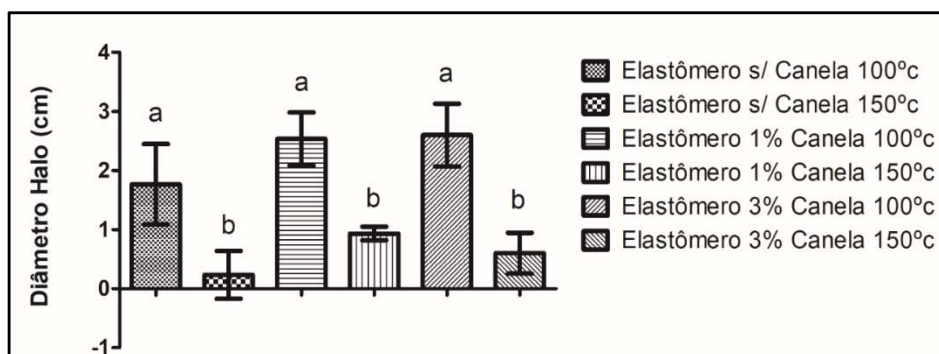
Figura 2: Atividade antifúngica dos compostos frente à levedura *C. tropicalis*. Compostos com letra ‘a’ não apresentaram diferença estatística. Realizado em placas de Petri, em meio Sabouraud em diferentes concentrações dos antifúngicos incubadas à 37°C por 48 horas, após realizado a leitura do número de colônias e o resultado expresso como percentual de número de colônias, comparado ao grupo controle. ** p<0,01; * p<0,001 .**



6.2.1 Atividade antifúngica após a incorporação dos compostos antifúngicos aos elastômeros e realização de diferentes métodos de esterilização

A atividade antifúngica após a incorporação no composto elastomérico se mostrou bastante variável, tendo sido influenciada pelos processos de vulcanização e esterilização/desinfecção. A Figura 9 demonstra estes resultados, onde a vulcanização a 100°C com e sem óleo essencial de canela teve influência menos significativa na atividade antifúngica do óleo, em comparação à vulcanização a 150°C. Nesta última, halos de inibição significativamente maiores puderam ser observados, mesmo no elastômero sem adição de canela.

Figura 9. Teste de inibição de crescimento de *C. albicans* com elastômeros vulcanizados em 100°C e 150°C, com diferentes concentrações de óleo essencial de canela .



A Figura 10 demonstra o efeito dos diferentes métodos de esterilização sobre a atividade antifúngica do óleo essencial de canela, evidenciando que a forma de esterilização em óxido de etileno foi a que menos influenciou na atividade antimicrobiana do elastômero. Nos elastômeros com 3% de óleo vulcanizados a 100°C e 150°C, assim como no elastômero vulcanizado a 150°C sem óleo, não forma evidenciados halo de inibição de crescimento.

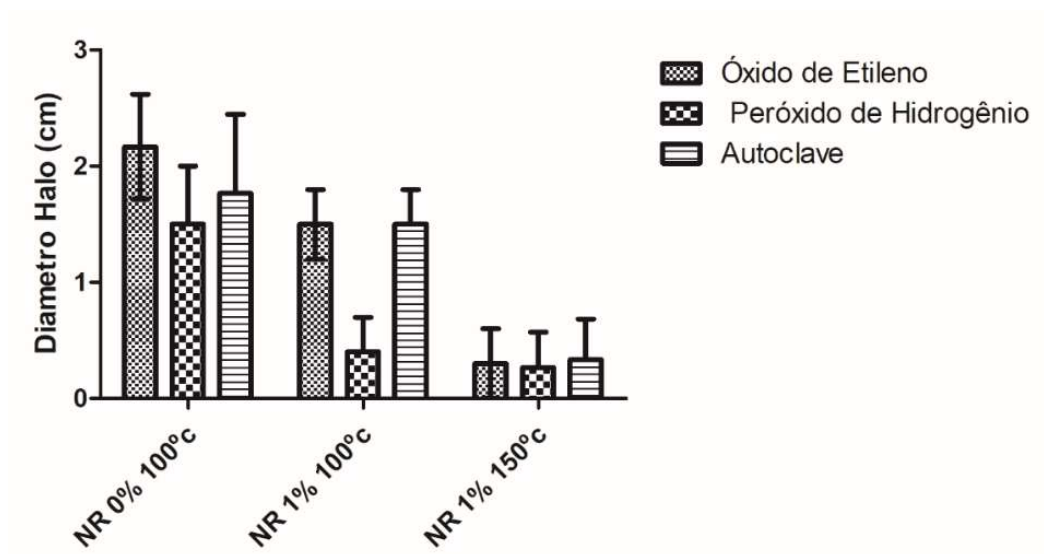


Figura 10. Teste de inibição de crescimento realizado com *C. albicans* com elastômeros esterilizados em óxido de etileno, plasma de peróxido de hidrogênio e autoclave, com elastômeros vulcanizados em 100°C e 150°C, com diferentes concentrações de óleo essencial de canela.

7 DISCUSSÃO

Atualmente, há poucas opções de antifúngicos disponíveis no mercado para o tratamento de infecções urinárias. O aumento da resistência a antifúngicos alerta para a necessidade do desenvolvimento de novas estratégias a fim de evitar a sua disseminação (ALFOUZAN, 2015). Dessa forma, três compostos diferentes, de origem natural, foram testados como potenciais antifúngicos contra *C. albicans* e *C. tropicalis*, importantes microrganismos responsáveis pelas doenças do trato urinário devido ao uso de sondas vesicais.

Pode-se verificar que dos compostos testados, o extrato de *P. sanguineus* não apresentou atividade antifúngica nas concentrações testadas, sendo comparável ao grupo controle, onde não foram utilizados compostos com atividade antifúngica. Já o furfural e óleo essencial de canela foram efetivos contra as leveduras testadas. A capacidade do óleo essencial de canela em exercer atividade antimicrobiana e antifúngica já era conhecida. Em estudo realizado por Dhingra (2005) verificou-se que o óleo possui atividade inibitória nos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus ruber*, podendo ser usado como marcador para padronização de conservantes naturais para sementes armazenadas. Ainda, Puangpronpitag e Sittiwet (2009) demonstraram atividade antimicrobiana do extrato aquoso da *Cinnamomun verum* (caneleira) contra *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*, agentes também presentes em infecções do trato urinário. Adicionalmente, o estudo de Banu *et al.* (2018) evidenciou que óleos essenciais, incluindo o óleo essencial de canela, inibiam microrganismos e inclusive a formação de biofilmes.

A análise termogravimétrica demonstrou que o óleo essencial de canela se manteve estável em temperaturas superiores a 150°C, temperatura máxima em que ocorre a vulcanização das borrachas, diferentemente do que ocorre com o furfural, que a 120°C já estava completamente degradado, com um teor de cinzas de 0,6%. Outra informação importante que pode ser obtida baseada na análise de TGA é que o óleo essencial de canela se trata de um composto puro, já que há somente uma temperatura de decomposição, demonstrada pela derivada da curva de TGA, a 435,6°C. Baseado nesses resultados, os testes posteriores foram realizados somente com este óleo.

Ainda, pode-se verificar que os elastômeros com e sem o óleo essencial de canela analisados no tiveram temperatura de início de decomposição semelhante, variando de

270 a 310°C. A adição do óleo parece diminuir a temperatura de início da decomposição do biomaterial. Entretanto, todas as temperaturas de decomposição foram superiores a temperatura utilizada na vulcanização, necessária para a produção do biomaterial. Além disso, o teor de cinzas a 500°C também é semelhante nos diferentes grupos testados, com exceção da amostra contendo 1% de óleo essencial de canela vulcanizada a 150°C que apresentou um teor de cinzas de aproximadamente 10%. De qualquer forma, não houve diferença estatística entre as amostras analisadas e todas demonstraram estabilidade térmica frente às diferentes temperaturas de vulcanização empregadas.

As borrachas obtidas foram facilmente manuseáveis e com características mecânicas semelhantes entre si, independente da concentração de óleo essencial de canela incorporada. As características mecânicas são extremamente importantes para desenvolvimentos de materiais com fins biomédicos, visto que passarão por manipulação de profissionais da saúde para aplicação nos pacientes, assim como, pela finalidade de cateter vesical, estarão em contato com o corpo humano por períodos prolongados, submetidos a um pH mais ácido, normal para a urina.

Com relação aos resultados das análises mecânicas realizadas, o alongamento na ruptura foi o teste que mostrou a maior variação entre as amostras testadas, sem, entretanto, haver uma correlação entre os diferentes grupos. O mesmo não foi observado para os demais testes realizados. Como pode-se observar, o módulo de elasticidade das amostras desenvolvidas foi semelhante à sonda comercial, o que demonstra uma boa maleabilidade dos materiais produzidos. Já nos testes de tensão máxima, percebe-se que os elastômeros resistem a uma tensão máxima maior que a sonda comercial, conferindo uma vantagem no manuseio pelos profissionais de saúde e na utilização pelos pacientes com sonda vesical.

Já a dureza está associada à quantidade de ligações cruzadas formadas durante o processo de vulcanização, sendo também diretamente afetada pela quantidade de enxofre presente. Neste estudo foram utilizados 2,2 partes por cem de borracha (phr) de enxofre em todas as borrachas produzidas. Como todas os grupos possuem a mesma quantidade de enxofre nas amostras, supôs-se que o tempo de vulcanização pudesse modificar essa propriedade nos elastômeros. No gráfico da Figura 9, verificou-se que o tempo de vulcanização não teve efeito significativo na dureza dos compostos e sugere-se que as ligações cruzadas para a produção do elastômero de borracha natural já haviam

maximizadas com a temperatura de 100°C, não tendo sofrido mais alterações em temperaturas superiores.

Assim, os materiais desenvolvidos demonstraram que possuem características semelhantes e até melhores em relação a sonda comercial como pode ser visto no módulo de tensão máxima e alongamento até a ruptura, o que permite que sejam manipulados para fins de aplicação biomédica.

A análise de FTIR foi realizada a fim de verificar a incorporação do óleo essencial de canela nos elastômeros. Como pôde-se observar, a análise foi mais dificultada pela presença de bandas referentes a borracha natural em comprimentos de onda também referentes e característicos do óleo de canela. Entretanto, nos elastômeros contendo as diferentes concentrações de óleo de canela, verificou-se um incremento na banda da região de 1540 cm^{-1} , referente a um estiramento da ligação C = C, presente tanto no óleo, como no elastômero. Entretanto, a absorvância dos elastômeros contendo óleo essencial de canela foi maior do que a encontrada nos elastômeros sem óleo. Além disso, a banda de 1727 cm^{-1} , correspondente ao aldeído de uma gordura saturada e a níveis elevados de cinamaldeído e aldeídos no óleo volátil de canela está visível nos elastômeros contendo canela e está ausente nos elastômeros sem canela (LI, 2013). Dessa forma, evidencia-se a presença de óleo essencial de canela nos elastômeros desenvolvidos.

Tendo sido realizada a caracterização físico-química dos materiais desenvolvidos, partiu-se para a análise da atividade antifúngica dos elastômeros. Para isso, além das diferentes concentrações de óleo essencial de canela incorporada à borracha, também foram testados diferentes tipos de métodos de esterilização: calor úmido (autoclavagem), óxido de etileno e plasma de peróxido de hidrogênio. Estes tratamentos asseguram uma esterilização eficiente dos materiais, habilitando-os para posterior uso *in vivo*. Essas técnicas permitem a redução de bactérias, endosporos bacterianos e fungos. Os resultados obtidos com peróxido de hidrogênio e autoclave foram negativos, visto que resultaram em inatividade dos compostos antifúngicos. No entanto, o elastômero esterilizado em óxido de etileno manteve parcialmente sua atividade antimicrobiana com óleo essencial de canela em 1% e 3%, apenas não inibindo crescimento no material sem o óleo.

Além disso, observou-se que mesmo a borracha sem adição de óleo de canela, exerceu poder inibitório, o que sugere que um dos compostos da formulação do próprio elastômero, como o enxofre, por exemplo, esteja exercendo poder inibitório de crescimento microbiano. Apesar de se conhecer o poder conservador do dióxido de

enxofre nos alimentos, pouco se conhece sobre o mecanismo de ação do dióxido de enxofre e derivados sobre os microrganismos. Acredita-se que a forma não dissociada do ácido sulfuroso (H_2SO_3) seja responsável pela atividade antimicrobiana, devido a maior facilidade de penetração através das membranas celulares. Tal fato é sustentado pela maior eficiência destes compostos a baixo pH. Uma outra hipótese é que a atividade antimicrobiana ocorra devido ao seu forte poder redutor com a redução da pressão de oxigênio a um ponto abaixo do requerido pelos microrganismos aeróbios ou pela ação direta sobre o sistema enzimático. O pH do produto é provavelmente a propriedade que mais influencia a ação antimicrobiana do dióxido de enxofre e sais derivados (Maia, 2006).

Apesar da efetividade dos métodos de esterilização empregados, eles podem causar alterações nas propriedades dos materiais (HOLY, 2001). Dessa forma, acredita-se que tais métodos tenham participado na inefetividade antifúngica do óleo testado, visto que podem ter ocasionado alterações estruturais no elastômero e no óleo essencial de canela incorporada a ele, a forma de esterilização em óxido de etileno foi a que menos influenciou na atividade antimicrobiana do elastômero.

8 CONCLUSÕES

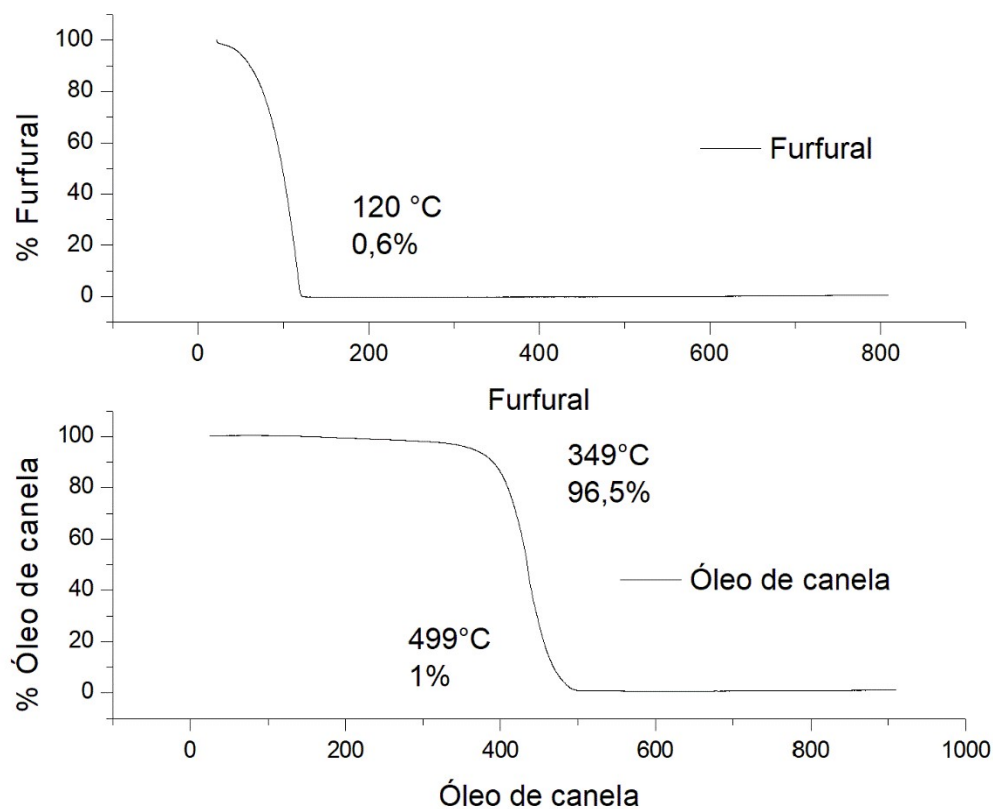
Em conclusão, por meio deste trabalho foi possível realizar um estudo dos potenciais antifúngicos como opção terapêutica aos medicamentos já existentes comercialmente. Além disso, os elastômeros com óleo essencial de canela se mostraram efetivos contra a levedura *C. albicans*, mesmo após processo de vulcanização e esterilização com óxido de etileno. Assim, um elastômero com potencial biomédico foi desenvolvido, para posteriormente ser utilizado em cateteres urinários impregnados, evitando-se assim a contaminação por fungos na uretra.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1. Inibição de crescimento de leveduras em porcentagem do furfural em *C. albicans* e *C. tropicalis*

LEVEDURAS	CONTROLE	INIBIÇÃO POR FURFURAL 6,25 mmol (%)	INIBIÇÃO POR FURFURAL 12,5 mmol (%)
<i>C.albicans</i>	100%	0%	0%
<i>C.tropicalis</i>	100%	0%	0%

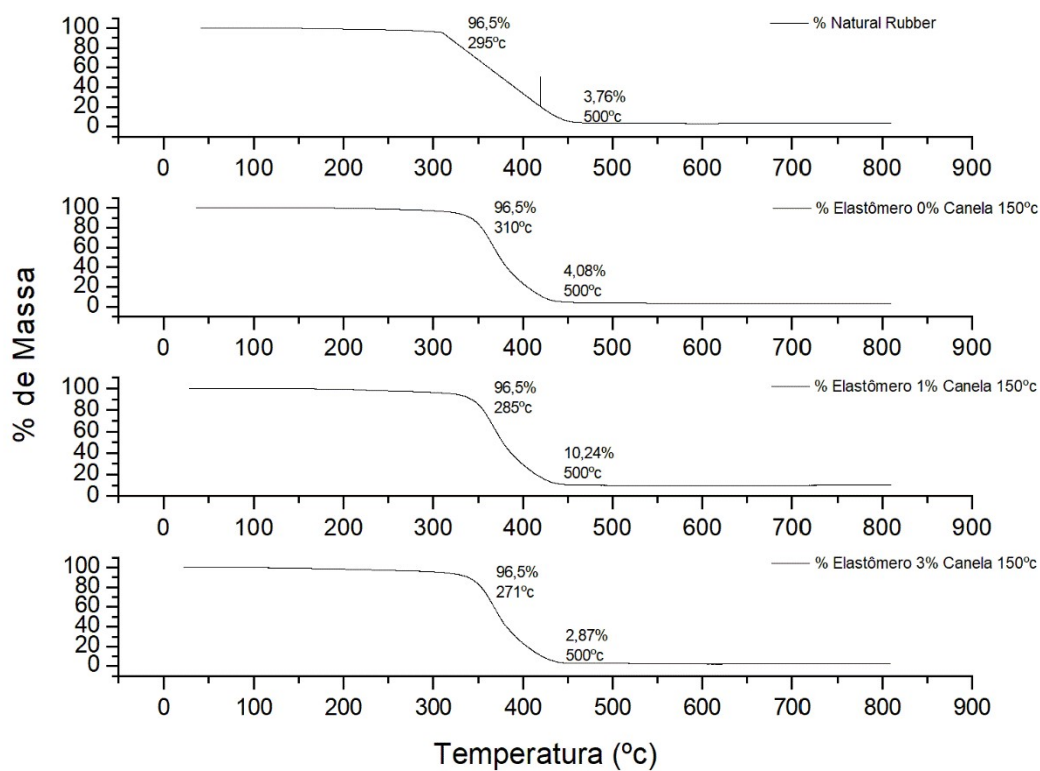
Figura 2: Análise termogravimétrica do furfural e óleo de canela gerada pelo software Microcal Origin.



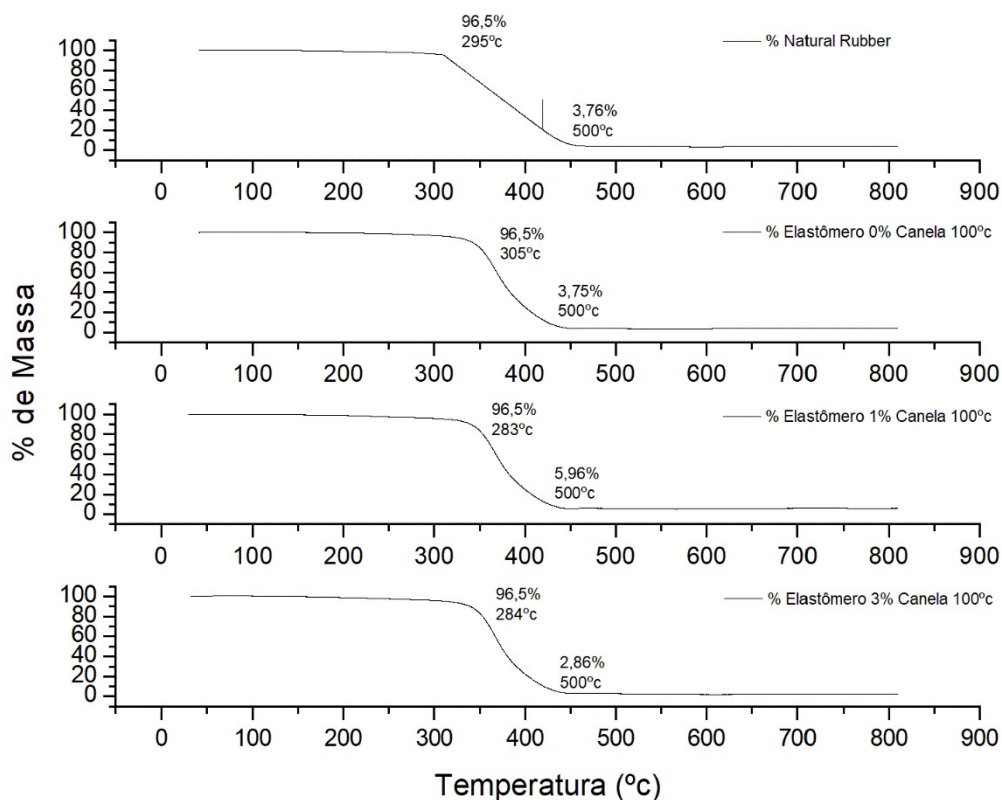
A Figura 2 apresenta a primeira derivada da curva de TGA do óleo de canela. Evidenciou-se que a temperatura de decomposição do óleo essencial de canela foi de 435,6°C. O óleo essencial de canela começou a se decompor a 349°C com um único evento de perda de massa com uma temperatura máxima de 433,6°C.

Figura 3: Análise termogravimétrica (TGA) de elastômeros vulcanizados em 100°C e 150°C, com diferentes concentrações de óleo essencial de canela .

b) 150°C



c) 100°C



A Figura 3 apresenta a análise termogravimétrica dos elastômeros com e sem óleo essencial de canela, mostrando a degradação dos mesmos. Considerando temperatura de vulcanização para o composto controle, sem óleo essencial de canela, o composto vulcanizado a 150°C apresentou maior estabilidade térmica, iniciando seu evento de perda de massa em 310°C. Verificou-se que a estabilidade diminuiu para o composto vulcanizado a 100°C e que a estabilidade térmica diminuiu com o aumento do teor de canela. Quanto maior o teor de óleo essencial de canela, menor é a estabilidade térmica do composto.

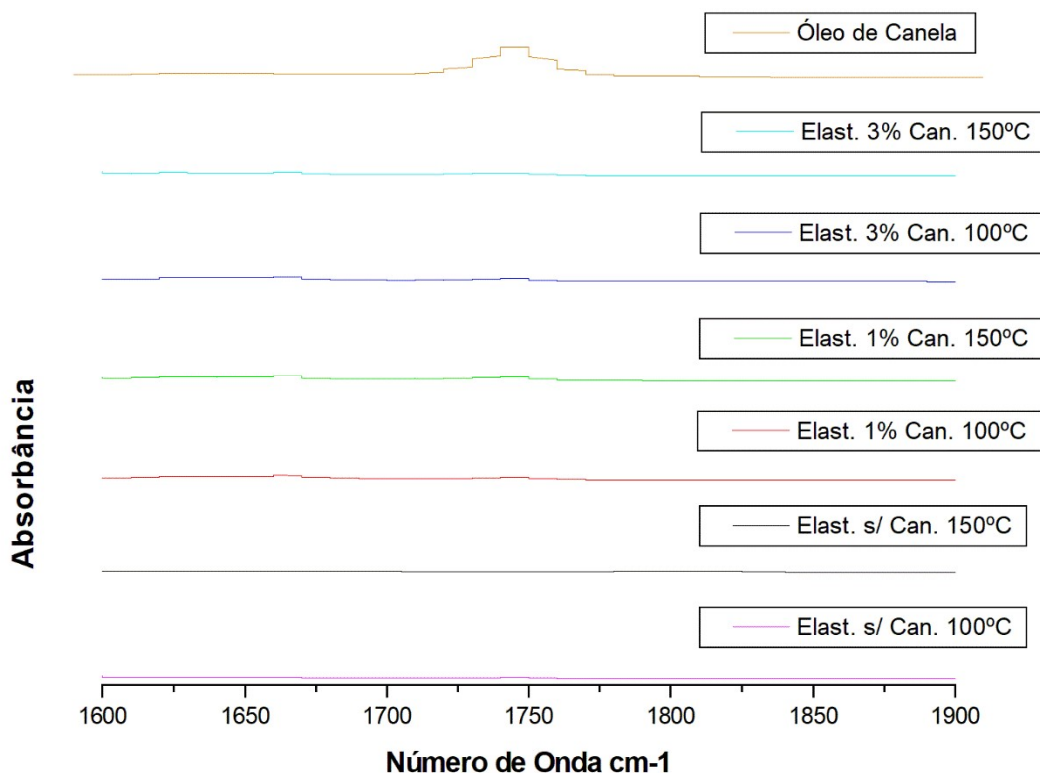
2. Espectroscopia de Infravermelhos com transformadas de Fourier (FTIR)

A Figura 4 apresenta a análise de espectroscopia de infravermelho de amostras de óleo de canela e do elastômero contendo os diferentes teores de óleo de canela testadas. As atribuições correspondentes às principais bandas, segundo tabela de Silverstein (1991)

foram em 2960 cm^{-1} , na banda de estiramento da ligação C-H do carbono olefínico. Na região de 2920 e 2850 cm^{-1} , encontrou-se o estiramento assimétrico e simétrico do grupo metila. Na região de 1450 e 1380 cm^{-1} , verificou-se a deformação angular assimétrica e simétrica do grupo metila. Na região de 1540 cm^{-1} , observou-se um estiramento da ligação C = C, e finalmente na região de 800 cm^{-1} , banda atribuída à flexão da ligação C-H em olefina trissubstituída típica do encadeamento cis-1,4. As bandas 1250 , 1100 e 1020 cm^{-1} são atribuídas respectivamente à deformação angular fora do plano e fora de fase do grupo metilênico, deformação axial da ligação C-CH₂ no plano. Todos os compostos apresentaram as bandas correspondentes ao poli (cis-1,4-isopreno). O espectro de óleo essencial de canela apresenta uma banda a 1727 cm^{-1} , correspondente ao aldeído de uma gordura saturada. Este pico corresponde a níveis elevados de cinamaldeído e aldeídos no óleo volátil de canela. A banda em 1450 cm^{-1} teve características de um C-OH de álcool dentro da absorção de vibração de flexão. As bandas de 1124 cm^{-1} e 1070 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações de estiramento de C-O e a vibração de deformação de C-OH. A banda a 685 cm^{-1} correspondeu à absorção de vibração de alcenos.

Ao compararmos os espectros dos compostos elastoméricos com o do espectro do óleo essencial de canela, constatou-se a sobreposição das bandas do óleo. As alterações apresentadas que puderam ser observadas encontram-se a partir do espectro da NR 1% de óleo essencial de canela, onde a banda em 1727 cm^{-1} , correspondente ao cinamaldeído teve intensidade aumentada quando comparado aos espectros NR 0% de óleo essencial de canela. Além disso, verificou-se que o processo de vulcanização fez com que a umidade contida no óleo essencial de canela desaparecesse, verificado no pico em 3410 cm^{-1} do espectro do óleo. O estiramento em 1660 cm^{-1} referente à -C=C- mostra a presença de cinamaldeído na amostra (LI, 2013).

Figura 4: Espectro no FTIR de amostras de óleo essencial de canela, com elastômeros vulcanizados em 100°C e 150°C, com diferentes concentrações do óleo.



2 Análises mecânicas do composto elastomérico

A Figura 5 apresenta as propriedades mecânicas dos elastômeros com e sem óleo de canela com suas diferentes concentrações e vulcanização a 100°C e 150°C. Como pode ser observado, o teste de alongamento na ruptura (Figura 5A) mostrou diferenças significativas em relação a sonda comercial mostrando bastante variação após a adição de óleo essencial de canela. Os elastômeros com o óleo mostraram pequeno percentual de alongamento em relação a sonda comercial e os elastômeros sem o óleo.

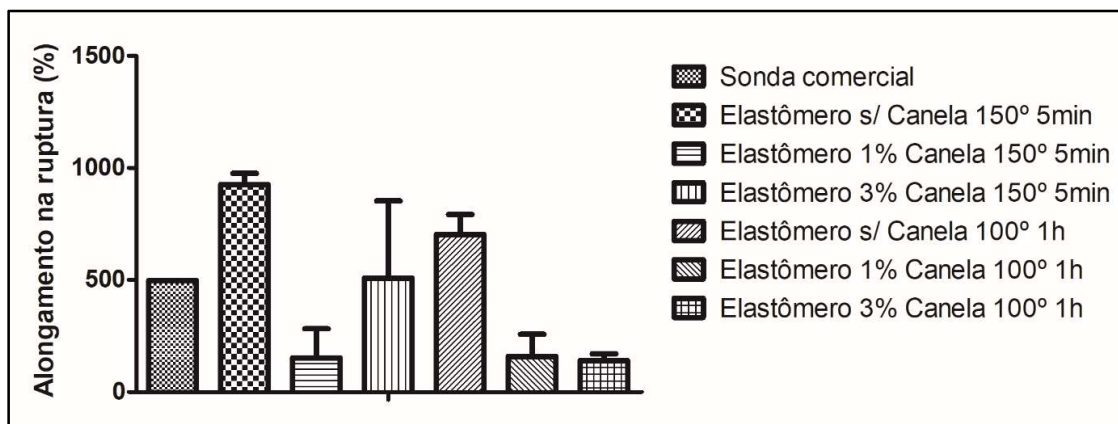
No teste de Modulo de Elasticidade (Figura 5B), embora os valores médios apresentados mostraram-se diferentes, os altos valores dos desvios padrões não permitem fazer afirmação de que ocorreram diferenças com exceção do valor apresentado para o elastômero sem o óleo essencial de canela vulcanizado a 100°C em relação ao vulcanizado a 150°C com 1% do óleo que se mostraram estatisticamente diferentes.

O módulo de Dureza Shore (Figura 5C) demonstrou resultados divergentes nos elastômeros com óleo essencial de canela e nos elastômeros sem o óleo, verificou-se que os elastômeros sem óleo vulcanizados a 100°C possuíam maior dureza, chegando a atingir 40 de dureza, enquanto que os elastômeros com óleo chegaram a 35 de dureza.

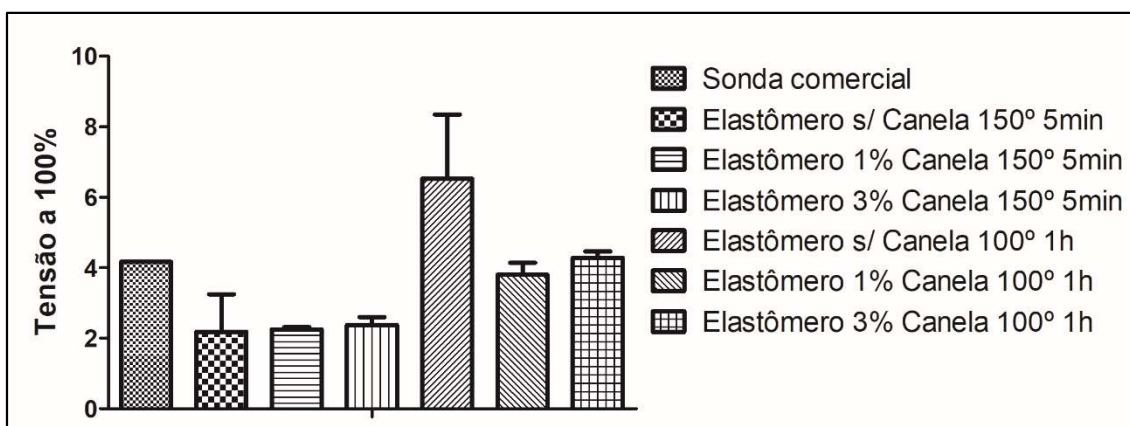
Os testes de tensão máxima (Figura 5D) mostraram que os elastômeros a 100°C de vulcanização possuem maior propriedade de tensão máxima na ruptura em relação aos vulcanizados a 150°C com ou sem óleo essencial de canela. A sonda comercial se mostrou com propriedade inferior a todos os elastômeros, não chegando a 5Mpa.

Figura 5. A) Alongamento na ruptura; B) Módulo de Elasticidade; C) Dureza Shore e D) Tensão Máxima, das amostras, com elastômeros vulcanizados em 100°C e 150°C, com diferentes concentrações de óleo essencial de canela.

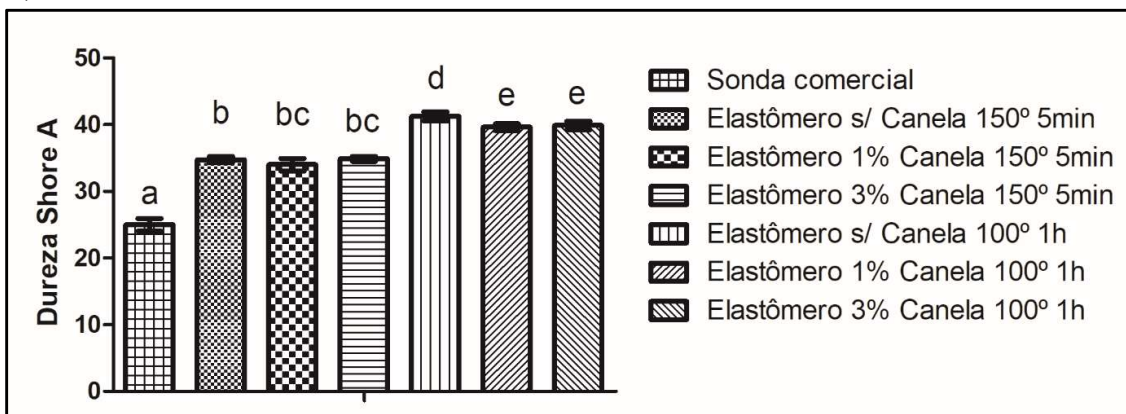
A)



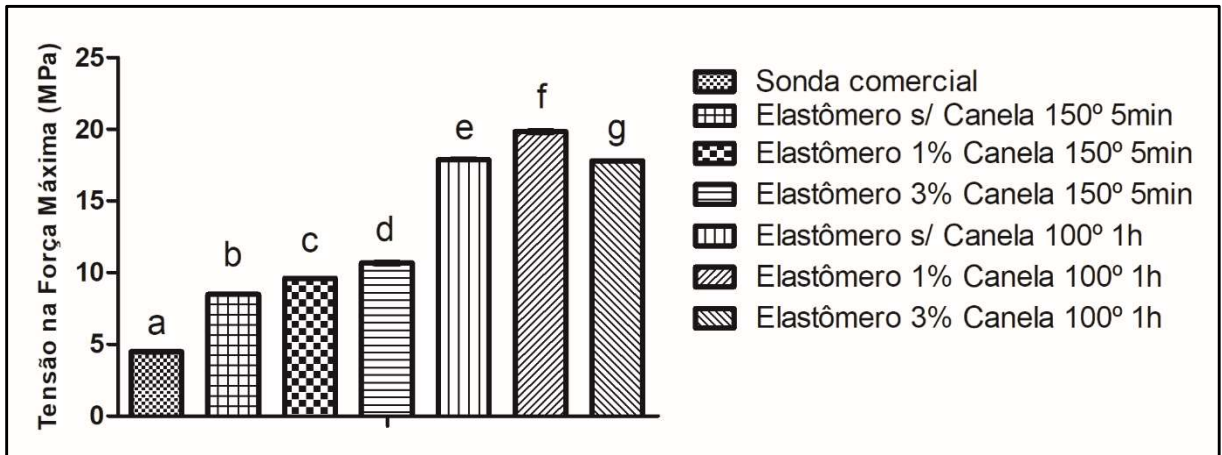
B)



C)



D)



REFERÊNCIAS

- ALFOUZAN, W.A.M. Epidemiological Study on Species Identification and Susceptibility Profile of Candida in Urine. **Fungal Genetics & Biology**, v. 5, p. 124, 2015.
- BANU, F.S.; RUBINI, S; SHANMUGAVELAM, P; MURUGAN, S; GOWRISHANKAR, S; PANDIAN, K.S.; NITHYANAND, P. Effects of patchouli and cinnamon essential oils on biofilm and hiphae formation by Candida species. **Journal de Mycologie Me´dicale**, v. 778, p. 8, 2018.
- HOLY, C.; CHENG, C.; DAVIES, J.; SCHOICHET, M.S. Optimizing the sterilization of PLGA scaffolds for use in tissue engineering. **Biomaterials**, v. 22, p. 25-31, 2001.
- LI, Y.; KONG, D.; HONG, W. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC–MS and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 269-278, 2013.
- NETT, J.E.; BROOKS, E.G.; CABEZAS-OLCOZ, J.; SANCHEZ, H.; ZARNOWSKI, R.; MARCHILLO, K.; ANDES, D.R. Rat Indwelling Urinary Catheter Model of Candida albicans Biofilm Infection. **Infection and Immunity**, p. 4931–4940, 2014.
- PUANGPRONPITAG, D.; SITTIWET, C. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. **Asian Journal of biological sciences**, v.2, p. 49-53, 2009.
- QUEIRÓS, M.I.; SANTOS, M.C.L.; CARDOSO, M.V.L.M. Infecções urinárias e uso de cateter vesical de demora em unidade pediátrica. **Revista de Rede de Enfermagem no Nordeste**, v. 12, p. 295-301, 2011.
- RISHPANA, M.S.; KABBIN, J.S. Candiduria in Catheter Associated Urinary Tract Infection with Special Reference to Biofilm Production. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9 (10), 2015.
- SAINT, S.; TRAUTNER, B. W.; FOWLER, K. E.; COLOZZI, J.; RATZ, D.; LESCINSKAS, E.; HOLLINGSWORTH, J. M.; KREIN, S. L. A Multicenter Study of Patient-Reported Infectious and Noninfectious Complications Associated With Indwelling Urethral Catheters. **JAMA Internal Medicine**, v. 178 (8), p. 1078-1085, 2018.
- SEGHIR, A.; BOUCHERIT-OTMANI, Z.; SARI-BELKHARROUBI, L.; BOUCHERIT, K. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida -bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, p. 20-27, 2017.

TOULET, D.; DEBARRE, C.; IMBERT, C. Could liposomal amphotericin b (l-amb) lock solutions be useful to inhibit candida spp. **Journal antimicrobial chemotherapy**, v. 67, p 430-432, 2011.

VANDERLINDE, D.G.; ONOFRE, S.B. Atividade antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* (Linnaeus: Fries) MURRILL, **Revista Saúde e Pesquisa**, p. 11-16, 2010.

VICENTE, M.F.; BASILIO, A.; CABELLO, A.; PELAEZ, F. Microbial Natural products as source of antifungals. **Clinical microbiology and infection**, p. 15-32, 2003.

9 DISCUSSÃO GERAL

A prevalência de *Candida* sp. em infecções urinárias tem sido objeto de estudo da comunidade científica devido principalmente à dificuldade de tratamento e cura, tendo em vista o grande potencial da levedura em formar biofilme. A formação de biofilme dificulta a terapêutica uma vez que a terapia antibiótica encontra uma barreira que impede a entrada dos antimicrobianos à célula, tornando assim o patógeno resistente a maior parte das drogas (BANU *et al.*, 2018).

O tratamento na maioria dos casos é dispendioso e também prejudicial ao paciente. As altas doses de agentes antifúngicos podem implicar em complicações incluindo danos aos rins e fígado, sendo que muitas vezes estes tratamentos nem são possíveis, visto que muitos pacientes críticos são incapazes de tolerá-los, o que ressalta a importância de se encontrar terapias alternativas aos tratamentos convencionais (GULATI & NOBILE, 2016).

Desde a antiguidade, o homem utiliza plantas com finalidades terapêuticas. As plantas utilizadas para esse fim são conhecidas como plantas medicinais, pois contêm compostos químicos que possuem propriedades biológicas benéficas à saúde (PAZ *et al.*, 2018). O uso empírico consolidado tem motivado a ciência moderna a pesquisar, entre as espécies vegetais, substâncias bioativas promissoras para o desenvolvimento de novos produtos. Dentre estes, destacam-se os chamados óleos essenciais, ou seja, líquidos oleosos aromáticos e lipofílicos, constituídos por uma mistura de compostos voláteis de baixo peso molecular. Diversas propriedades têm sido demonstradas nos óleos essenciais, tais como efeito antimicrobiano, antioxidante e antiinflamatório. E mais recentemente, efeitos antifúngicos também foram evidenciados. Isto está exemplificado no estudo realizado por Banu (2018) com óleos essenciais de *Pogostemon heyneanus*, *Cinnamomum tamala* e *Cinnamomum camphora*, onde foi demonstrada diminuição significativa de crescimento leveduriforme em formação de biofilme em espécies de *Candida glabrata*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*.

O óleo essencial de canela também tem sido amplamente estudado para uso em diversos segmentos, na indústria, sendo testado na fabricação de embalagens, no intuito de diminuir o crescimento de bactérias e fungos (SOUZA *et al.*, 2014). No presente trabalho optou-se por se testar o óleo essencial de canela, o extrato de *Pycnoporus sanguineus* e o furfural como possíveis antifúngicos, na tentativa de substituir os antifúngicos já existentes evitando propagação de fármacos ao meio ambiente e possível resistência dos fungos aos fármacos já disponíveis no mercado. O método de combater a infecção do trato urinário, seria evitar a

formação de biofilme de *Candida* sp. em cateteres urinários, através de um cateter impregnado com as substâncias a serem testadas.

A primeira etapa foram os testes para determinação das concentrações dos antifúngicos a serem testados frente as leveduras *C. albicans* e *C. tropicalis*. Para isto foram utilizados furfural, extrato de *Pycnoporus sanguineus*, óleo essencial de canela, e os antifúngicos comerciais: cetoconazol, fluconazol, nistatina, anfotericina B e itraconazol.

O antifúngico comercial anfotericina B e o extrato natural de *Pycnoporus sanguineus* foram os únicos que não apresentaram efetividade, apresentando crescimento de colônias nas três concentrações testadas. Desta forma, optamos por não utilizar o *Pycnoporus sanguineus* para a elaboração dos elastômeros e testes posteriores.

Sendo assim, seguiu-se a etapa de definição de formulação do elastômero, com suas respectivas formulações. A formulação de elastômero visa selecionar materiais e aditivos para se obter uma mistura que proporcione as propriedades físico-mecânicas, dinâmicas e químicas desejadas ao produto final. Os mesmos foram testados quanto suas propriedades físico-mecânicas, bem como o furfural e o óleo essencial de canela isoladamente. Foram realizados os testes mecânicos de Dureza Shore, Modulo Elástico, alongamento na ruptura e tensão na força máxima. As análises termogravimétricas foram realizadas com o furfural e o óleo essencial de canela. Nesta análise se evidencia que o óleo pode suportar temperaturas extremamente altas, chegando até 435.6°C sem perda de massa, enquanto que o furfural já apresenta decomposição a partir de 120°C.

Com a formulação ideal, seguiu-se então a incorporação dos antifúngicos ao elastômero. O furfural foi descartado desta etapa por sua incapacidade de suportar elevadas temperaturas, o que poderia comprometer sua eficácia antifúngica após o processo de vulcanização do elastômero. Após a incorporação do óleo essencial de canela nas concentrações de 1% e 3%, os elastômeros avaliados para a ação antifúngica frente a *C. albicans*. Em todas as concentrações apresentaram-se halos de inibição, evidenciando o potencial antifúngico do material.

Posteriormente, seguiu-se para a realização das esterilizações. Os resultados obtidos com peróxido de hidrogênio e autoclave não foram promissores, visto que resultaram em inatividade dos compostos antifúngicos. No entanto, os elastômeros esterilizados em óxido de etileno mantiveram parcialmente sua atividade antimicrobiana com óleo de canela em 1% e 3%, apenas não inibindo crescimento no material sem óleo de canela.

Sugere-se que para o seguimento deste trabalho que a pesquisa progrida no sentido de avaliar a influência das possíveis atividades biológicas em corpo animal em contato com os

elastômeros nas seguintes situações: i. avaliação *in vitro* de fluido corpóreo em contato com o elastômero, a fim de verificar possíveis danos ou degradação do material em contato com a mucosa e fluidos corpóreos humanos; ii. avaliação de resposta *in vitro* de tecido epitelial em contato com o elastômero, a fim de verificar possíveis respostas inflamatórias do organismo humano em contato com o material.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, visou-se desenvolver um material elastomérico com potenciais antifúngicos naturais para futura utilização em cateteres vesicais para uso em humanos. Como opção, foram testados antifúngicos potenciais como o óleo essencial de canela, *P. sanguineus* e furfural. O óleo essencial de canela se mostrou efetivo, com capacidade antifúngica, mesmo após o processo de vulcanização do elastômero.

Os elastômeros sintetizados demonstraram propriedades semelhantes a sonda comercial e em alguns casos com propriedades até superiores ao do cateter controle, como ocorreu na análise de tensão na força máxima que o material demonstrou maior resistência.

Desta forma, embora maiores estudos precisem ser realizados a fim de superar os desafios técnicos apresentados, um elastômero com potencial biomédico foi desenvolvido, para posteriormente ser utilizado em cateteres urinários impregnados, evitando-se assim a contaminação por fungos na uretra.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

G. CICCOTTI, S. CAPRARA, AND F. AGOSTINI. **Energy Transfer Dynamics in Biomaterial Systems** p.447-448, 2009.

ALFOUZAN W.A.M. Epidemiological Study on Species Identification and Susceptibility Profile of Candida in Urine. **Fungal Genomics & Biology**, v.5, p.124, 2015.

ANVISA. Resolução de diretoria colegiada - RDC Nº 283, 26 de Setembro de 2005.

BARBADORO, P.; LABRICIOSA, F.; RECANTINI, C.; GORI, G.; TIRABASSI, F.; MARTINI, E.; GIOIA, M.; MARCELLO, D.; PROSPERO, E. Catheter-associated urinary tract infection: **Role of the setting of catheter insertion**. v. 43, p. 707-10, 2015.

BARROS, S.K.S.A.; KERBAUY, G.; DESSUNTI, E.M. Infecção do trato urinário relacionada ao cateter: perfil de sensibilidade antimicrobiana. **Revista da Rede de Enfermagem no Nordeste**, v. 14, p. 1005-13, 2013.

BENNETT, J.E. Antimicrobianos: Agentes antifúngicos. IN: Goodman L.S, Gilman A.G, Hardman J.G, Limbrid L.E. Goodman; Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10º Ed., Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill. p. 971-983, 2003.

CHAI, W.M.; LIU, X.; HU, Y.H.; FENG, H.L.; JIA, Y.L.; GUO, Y.J.; ZHOU, H.T.; CHEN, Q.X. Antityrosinase and antimicrobial activities of furfuryl alcohol, furfural and furoic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2016.

CHEN, S.C.A.; SORRELL, T. Antifungal Agents. **Medica Journal of Australia**, v. 187, p. 404-409, 2007.

COLOMBO, E.T.; GUIMARÃES, A.L.; Candidúria: uma abordagem clínica e terapêutica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 40, p. 332-337, 2007.

COOPER, I.R.; POLLINI, M.; PALADINI, F. The potential of photo-deposited silver coatings on Foley catheters to prevent urinary tract infections. **Materials Science and Engineering**, v. 69, p. 414-420, 2016.

CORNISH, K. Biochemistry of natural rubber, a vital raw material, emphasizing biosynthetic rate, molecular weight and compartmentalization, in evolutionarily divergent plant species. **Phytochemistry**, v. 57, p. 1123-1134, 2001.

COSTA, P.F.M.; PINTAUD, G. Efeito do envelhecimento no módulo elástico de elastômero determinado em ensaios instrumentados de dureza com geometria esférica. In: Seminário anual em engenharia mecânica e materiais, **Anais**, 09, 2010.

CUNHA, R.F.R.; ZANOTTO, S.P.; VEIGA, V.F. Uso da cinabarina e a sustentabilidade na produção de metabólitos de *Pycnoporus sanguineus* da Amazônia. Trabalho apresentado no Seminário Internacional de Ciências do Ambiente e Sustentabilidade da Amazônia. Manaus, 2016.

FRANT, M.; DAYYOUB, E.; BAKOWSKY, U.; LIEFEITH, K. Evaluation of a ureteral catheter coating by means of a BioEncrustation in vitro model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, n. 1-2, p. 86-96, 2018.

FILLIPIN, F.B.; SOUZA, L.C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina b, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, 2006.

FISHER, L.E.; HOOK, A.L.; ASHRAF, W.; YOUSEF, A.; BARRETT, D.A.; SCURR, D.J.; CHEN, X.; SMITH, E.F.; FAY, E.M.; PARMENTER, C.D.; PARKINSON, R.; BAYSTON, R. Biomaterial modification of urinary catheters with antimicrobials to give long-term broadspectrum antibiofilm activity. **Journal of Controlled Release**, v. 202, p. 57-64, 2015.

GOMES, C.L.; CAVALCANTE, J.; CUNHA, F.A.; AMORIM, N.L.; MENEZES, E.A. Identificação e perfil de sensibilidade de candida spp isoladas de urina de pacientes com candidúria em Iguatu-Ceará. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, p. 223-225, 2010.

GULATI, M.; NOBILE, C. Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, v. 18, p. 310-321, 2016.

HOFMANN, W. Rubber Technology Handbook, Hanser, New York, 1989.

HOFFMANN, F.L.; SOUZA, S.J.S.; GARCIA-CRUZ, C.H.; VINTURIM, T.M.; DUTRA, A.L. Determinação da atividade antimicrobiana "in vitro" de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim Ceppa, Curitiba**, v. 17. p. 11-20, 1999.

HOLLENBEAK, C.S., SCHILLING, A.L. The attributable cost of catheter-associated urinary tract infections in the United States: A systematic review. **American Journal of Infection Control**, v. 46, n.7, p. 751-757, 2018.

HOMENKO, A. S. Verdades e mitos no seguimento de pacientes com cateteres vesicais de demora. **Sinopse de Urologia**, p. 7, 2003.

IGARASHI, Y.; IIDA, T.; SASAKI, T.; SAITO, N.; YOSHIDA, R.; FURUMAI, T. Isolation of actinomycetes from live plants and evaluation of antiphytopathogenic activity of their metabolites, 22(5), p. 316-321, 2001.

IRWIN, N.J.; MCCOY, C.P.; JONES, D.S.; GORMAN, S.P. Infection-Responsive Drug Delivery from Urinary Biomaterials Controlled by a Novel Kinetic and Thermodynamic Approach. **Pharmaceutical Research**, v. 30, p. 857-865, 2013.

JAMMALAMADAKA, U.; TAPPA, K. Recent Advances in Biomaterials for 3D Printing and Tissue Engineering. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 9, n.1, p. 1-14, 2018.

BUGARIN JUNIOR, J.G.; GARRAFA, V. Bioética e biossegurança: uso de biomateriais na prática odontológicas. **Revista Saúde Pública**, v. 41, p. 223-8, 2007.

KARTSONIS, N.A.; NIELSEN, J.; DOUGLAS, C.M. Caspofungin: the first in a new class of antifungal agents. **Drug resistance updates**, 2003.

KONTOYIANNIS, D.P.; BODEY, G.P.; MANTZOROS, C.S. Fluconazole vs. Amphotericin

b for the management of candidaemia in adults: A metanalysis. **Mycoses**, v. 44, p. 125-35.7, 2001.

LEBLEBICIOGLU, H.; ROSENTHAL, V.D.; ARIKAN, O.A.; OZGÜLTEKIN, A.; YALCIN, A.N.; KOKSAL, I.; et al. Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish ICUs. Finding of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). **J Hosp Infect**, v. 65, p. 251-7, 2007.

NICOLLE, L.E. The chronic indwelling catheter and urinary infection. v. 22, 8, p. 627-639, 2012.

LIU, W.; GUAN, X.; YU, Z.; CHEN, K.; BENET, L.; ZHAI, S.A. Drug-drug Interaction Between Cyclosporine and Nystatin. **Clin Ther Epub**, v. 40, p. 660-662, 2018.

LUCCHETTI, G.; SILVA, A.J.; MIMICA, L.M.J. Infecções do trato urinário: análise da frequência e do perfil de sensibilidade dos agentes causadores de infecções do trato urinário em pacientes com cateterização vesical crônica. **Jornal Brasileiro de patologia médica e laboratorial**, v. 41, p. 383-9, 2005.

MANZANO-GAYOSSO, P.; MÉNDEZ-TOVAR, L.J.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, F.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, R. La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. **Gaceta Médica de México**, v. 144, p. 23-26, 2007.

MASKARINEC, S. A.; PARLAK, Z.; TU, Q.; LEVERING, V.; ZAUSCHER, S.; LÓPEZ, G. P.; FOWLER, V. G. JR.; PERFECT, J. R. On-demand release of *Candida albicans* biofilms from urinary catheters by mechanical surface deformation. **Biofouling**, v. 34, n. 6, p. 595-604, 2018.

MENEZES, A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 354-355, 2009.

MEYLER'S Side Effects of drugs. The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions 16 Edition, 2016.

MISHRA, M.; AGRAWAL, S.; SHARMILA, R.; KURHADE, A.M.; POWAR, R.M. Profile of Yeasts Isolated from Urinary Tracts of Catheterized Patients. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 8, p. 44-46, 2014.

MORAIS, E. Liberação de íons por biomateriais metálicos. **Revista Dental Press ortodontia facial**, v. 6, p. 48-53, 2007.

NETT, J.E.; BROOKS, E.G.; CABEZAS-OLCOZ, J.; SANCHEZ, H.; ZARNOWSKI, R.; MARCHILLO, K.; ANDES, D.R. Rat Indwelling Urinary Catheter Model of *Candida albicans* Biofilm Infection. **Infection and Immunity**, p. 4931–4940, 2014.

Norma ISO 10993 Avaliação biológica de dispositivos médicos.

ORÉFICE, L.R.; VILLANOVA, C.O.; CUNHA, A. Aplicações farmacêuticas de polímeros: **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 20, 1, p. 51-64, 2010.

PAPPAS, P.G.; KAUFFMAN, C.A.; ANDES, D.R.; CLANCY, C.J.; MAEE, K.A.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; REBOLI, A.C.; SCHSTER, M.G.; VAZQUEZ, J.A.; WALSH, T.J.; ZAOUTIS, T.E.; SOBEL, J.D. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infection Diseases**, v. 6, 2016.

PAZ, J.E.W.; CONTRERAS, C.R.; MUNGUÍA, A.R.; AGUILAR, C.N.; INUNGARAY, M.L.C. Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 656-661. 2018

PENG, D.; LI, X.; LIU P.; LUO, M.; CHEN, S.; SU, K.; ZHANG, Z.; HE, Q.; QIU, J.; LI, Y. Epidemiology of pathogens and antimicrobial resistance of catheter-associated urinary tract infections in intensive care units: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Infection Control**, v. 46, n. 12, p. e81-e89, 2018.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J.; SHEEHAN, D.J. Interpretive Breakpoints for Fluconazole and *Candida* Revisited: a Blueprint for the Future of Antifungal Susceptibility Testing. **Clinical Microbiology Reviews**, p. 435-447, 2006.

PIERCE, C. G.; VILA, T.; ROMO, J. A.; MONTELONGO-JAUREGUI, D.; WALL, G.; RAMASUBRAMANIAN, A.; LOPEZ-RIBOT, J. L. The *Candida albicans* Biofilm Matrix: Composition, Structure and Function. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2017.

QUEIRÓS, M.I.; SANTOS, M.C.L.; CARDOSO, M.V.L.M. Infecções urinárias e uso de cateter vesical de demora em unidade pediátrica. **Revista de Rede de Enfermagem no Nordeste**, v.12, p. 295-301, 2011.

RAMAKRISHNA, S.; MAYER, J.; WINTERMANTEL, E.; LEONG, K.W. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. **Composites Science and Technology**, v. 61, p. 1189-1224, 2001.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Fármacos antifúngicos**. Farmacologia. 5 ed, Rio de Janeiro: Elsevier, p. 758-764, 2004.

RATNER, B.; HOFFMAN, A.; SCHOEN, F.; LEMONS, J. J. E. *Biomaterials Science*, 3 p. 864 2013.

RISHPANA, M.S.; KABBIN, J.S. Candiduria in Catheter Associated Urinary Tract Infection with Special Reference to Biofilm Production. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9, 2015.

ROCHA, E.C.; LOVISON, V.M.H.; PIEROZAN, N.J. **Tecnologia de transformação dos elastômeros**, 2. Ed., São Leopoldo: Senai-cetepo, Centro tecnológico de polímeros, 2003.

RODRIGUES D.; MEZZARI, A.; FUENTEFRÍA, A.M. Candiduria: up-to-date review. **Revista Brasileira Em Promoção da Saúde**, Fortaleza, 24(2), p. 142-150, 2011.

ROSA, L.H.; COTA, B.B.; MACHADO, K.M.G.; ROSA, C.A.; ZANI, C.L. Antifungal and other biological activities from *Oudemansiella canarii* (Basidiomycota). **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 21, p. 983-987, 2005.

SAINT, S.; TRAUTNER, B. W.; FOWLER, K. E.; COLOZZI, J.; RATZ, D.; LESCINSKAS, E.; HOLLINGSWORTH, J. M.; KREIN, S. L. A Multicenter Study of Patient-Reported Infectious and Noninfectious Complications Associated With Indwelling Urethral Catheters. **JAMA Internal Medicine**, v. 178, n. 8, p. 1078-1085, 2018.

SEGHIR, A.; BOUCHERIT-OTMANI, Z.; SARI-BELKHARROUBI, L.; BOUCHERIT, K. Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida -bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, p. 20-27, 2017.

SELEK, M.B.; ATIK, T.K.; BEKTÖRE, B.; ATIK, B.; DEMIR, S.; BAYLAN, O.; Mustafa ÖZYURT, M. First report of macroscopic biofilm formation caused by Candida on silver hydrogel-coated urinary catheters. **American Journal of Infection Control**, v. 44, p. 1174-5, 2016.

SEVTAP, A.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; LOZANO-CHIU, M.; PAETZNICK, V.; GORDON, D.; WALLACE, T.; REX, J. In Vitro Activity of Nystatin Compared with Those of Liposomal Nystatin, Amphotericin B, and Fluconazole against Clinical Candida Isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 1406-1412, 2002.

SHUMAN, E. K.; CHENOWETH, C. E. Urinary Catheter-Associated Infections. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 885-897, 2018.

SILVA, J. **Avaliação de propriedades de artefatos à base de borracha natural**, Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em química. Instituto de química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro 109 páginas, 2007.

SILVA, M.T.N.; USHIMARU, P.I.; BARBOSA, L.N.; CUNHA, M.L.R.S.; FERNANDES JUNIOR, A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de Staphylococcus aureus e escherichia coli isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Publicações Médicas**, v. 11, p.257-262, 2009.

SINGHA, P.; LOCKLIN, J.; HANDA, H. A review of the recent advances in antimicrobial coatings for urinary catheters. **Acta Biomaterialia**, v. 50, p. 20-40, 2017.

SOO KO, K. ; LEE, J.; SONG, J.; PECK, K. **Journal Korean Medical Science**, v. 25, p. 1722-1726, 2010.

SOUZA, A.C.S.; TIPPLE, A.F.V.; BARBOSA, J.M.; PEREIRA, M.S.; BARRETO, R.A.S.S. Cateterismo urinário: conhecimento e adesão ao controle de infecção pelos profissionais de enfermagem. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, p. 724-735, 2007.

SOUZA, J.R.; MOURA, M.R.; CORRÊA, D.S.; MATOSO, L.H.C. **Obtenção e caracterização polimérica de nanopartículas ativas contendo óleo essencial de canela**. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais. 21°CBEICIMAT, 2014.

SOUZA, S.O.; CAMPOS, T.R. *Candida albicans*: Fatores de Virulência e de Resistência e o uso de derivados vegetais como alternativa de tratamento da candidíase oral. **Dissertação de Trabalho de Conclusão de Curso**, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2011.

STAUB, I.; SCHAPOVAL, E.E.; BERGOLD, A.M. Microbiological assay of ketoconazole in shampoo. **E Pub**, v. 292, p. 195-9, 2005.

SUAY, I.; ARENAL, F.; ASENSIO, F.J.; BASILIO, A.; CABELLO, M.A.; DÍES, M.T.; GARCÍA, J.B.; DEL VAL, A.G.; GORROCHATEGUI, J.; HERNÁNDEZ, P.; PELÁEZ, F.; VICENTE, M.F. **Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities**, v. 78, p. 129-39, 2000.

SCHUMM K, LAM TBL. Types of urethral catheters for management of short-term voiding problems in hospitalized adults: a short version Cochrane Review. Sri Lanka **J Obst and Gynae**, v. 31, p. 110-21, 2009.

SULLIVAN, K. A.; CAYLOR, M. M.; LIN, F. C.; CAMPBELL-BRIGHT, S. Comparison of Amphotericin B Bladder Irrigations Versus Fluconazole for the Treatment of Candiduria in Intensive Care Unit Patients. **Journal of Pharmacy Practice**, v. 30, n. 3, p. 347-352, 2017.

SUN Y, ZENG Q, ZHANG Z, XU C, WANG Y, HE J. Decreased urethral mucosal damage and delayed bacterial colonization during short-term urethral catheterization using a novel trefoil urethral catheter profile in rabbits. **Journal of Urology**, v. 186, p. 1497-501, 2011.

TEKE T, YAVUZ Z, ATALAY H, MADEN E, SOLAK Y, UZUN K. Efficiency of silver coated urinary catheter in catheter-associated urinary tract infection in critical care unit. **American Journal of Medicine**, v. 2, p. 45-7, 2010.

THOMÉ, I.S. **Avaliação in vitro da utilização de cateteres urinários com aditivo antimicrobiano**, Tese de mestrado; Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, Santa Catarina, 99 páginas, 2007.

TOULET, D.; DEBARRE ,C.; IMBERT, C. Could liposomal amphotericin b (l-amb) lock solutions be useful to inhibit candida spp. **Journal antimicrobial chemotherapy**, v. 67, p. 430-432, 2011.

TUMBARELLO, M.; FIORI, B.; TRECARCHI, E.M.; POSTERARO, P.; LOSITO, A.; DE LUCA, A.; SANGUINETTI, M.; FADDA, G.; CAUDA, R.; POSTERARO, B. Risk Factors and Outcomes of Candidemia Caused by Biofilm-Forming Isolates in a Tertiary Care Hospital. **Plos One**, v. 7, p. 3, 2012.

VANDERLINE, D.G.; ONOFRE, S.G. Atividade Antimicrobiana de metabólitos produzidos pelo fungo *pyncoporus sanguineus* (linnaeus: fries). **Revista Saúde e Pesquisa**, p. 11-16, 2010.

VICENTE, M.F.; BASILIO, A.; CABELLO, A.; PELAEZ, F. Microbial Natural products as source of antifungals. **Clinical microbiology and infection**, p. 15-32, 2003.

WIŃSKA, K.; MAĆZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 1-21, 2019.

ZARDO, V.; MEZZARI, A. (2004). **Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp.** Newslab, v. 63, p. 136-146.

CALLISTER, JR. W. D. E RETHWISCH, D. G. **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução.** 8ª ed. Rio de Janeiro : LTC, 2012.