

**Autores. Título.** *In Propriedades e Aplicações dos Biomateriais*, Editores Carlos Nelson Elias, Ana Karine Rocha de Andrade Nattrodt e Roberto Hirsch Monteiro. Edição digital 2022. **definir pela organização ISBN XXX, DOI YYY e pág.**

## **FUNCIONALIZAÇÃO DE SUPERFÍCIES VISANDO EFEITO BACTERICIDA A PARTIR DE FILMES PRODUZIDOS POR POLIMERIZAÇÃO À PLASMA FRIO E PRECURSORES DE ORIGEM NATURAL**

Matheus da Silva Bullman<sup>1</sup>, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), matheusws7.4@gmail.com, ORCID 0000-0002-9303-225X

Célia de Fraga Malfatti<sup>2</sup>, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), celia.malfatti@ufrgs.br, ORCID 0000-0002-0819-479X

### **RESUMO**

Neste artigo de revisão, é apresentado o avanço tecnológico das pesquisas sobre a funcionalização de superfícies por polimerização à plasma a frio a partir de precursores naturais visando a aplicação bactericida. A polimerização por plasma em baixas temperaturas é uma técnica capaz de produzir filmes finos de origem orgânica sobre os mais diversos substratos sem alterar a integridade do material. A adesão e formação de biofilmes em superfícies metálicas estão relacionadas a múltiplos casos de infecções em ambientes hospitalares e em contaminações na indústria alimentícia, causando sérias preocupações a saúde pública. Visando a obtenção de revestimentos a partir de precursores naturais (eco-friendly), é necessário controlar os parâmetros de deposição para a obtenção de uma funcionalização da superfície com características biocidas, combinando nano texturas, distribuição de grupos funcionais, hidrofobicidade e baixos valores de rugosidade. A utilização de precursores ecologicamente corretos é capaz de inibir colonização de bactérias do tipo gram-positiva e gram-negativa a partir de revestimentos poliméricos de baixo custo e livres de antibióticos. Contudo, ainda é necessário um estudo sobre as características toxicológicas de tais substâncias. No presente artigo, revisamos de forma abrangente a produção e efeito antimicrobiano de filmes obtidos via polimerização por plasma a frio empregando produtos metabólitos secundários de plantas.

**Palavras-chave:** *Polimerização por plasma a frio, revestimento bactericida, precursor natural.*

## 1. INTRODUÇÃO

É de conhecimento geral que bactérias crescem e se desenvolvem preferencialmente em superfícies, depois de aderidas, estima-se que 90% desses microrganismos se encontrem na forma de aglomerados revestidos por uma complexa matriz de polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, denominado de biofilme (Stoodley *et al.*, 2002). Esses conglomerados sésseis estão relacionados ao desenvolvimento de doenças infecciosas em todo o mundo.

No ambiente hospitalar, o crescimento do biofilme está associado aos dispositivos médicos e principalmente aos materiais de implantes cirúrgicos, incluindo os metálicos. Aproximadamente 80% dos casos de Infecção de Sítio Cirúrgico (ISC) estão associadas à formação de biofilme, essas infecções causam complicações à saúde do paciente restringindo sua qualidade de vida, aumentando significativamente as taxas de mortalidade, morbidade, e também eleva os custos hospitalares para tratamento das infecções (Batoní, Maisetta e Esin, 2016; Edmiston *et al.*, 2015; Veerachamy *et al.*, 2014). Na indústria alimentícia, nos ambientes de processamento há uma grande quantidade de nutrientes disponíveis que favorecem o crescimento do biofilme em equipamentos, embalagens, utensílios e superfícies de contato. Essa contaminação pode causar danos a toda linha de produção através da corrosão dos equipamentos industriais, além do alto risco de propagação de infecções alimentares, representando consequentes perdas econômicas e prejuízos à saúde pública (Mattila Sandholm e Wirtanen, 1992).

Bactérias do tipo gram-positivo e gram-negativo quando se encontram na forma planctônica são livres e possuem uma rápida propagação para outros ambientes, e depois de aderidas a uma superfície, desenvolvem uma comunidade com capacidade de resistência à antibióticos e aumento da resistência à resposta imune do hospedeiro, sendo assim necessário a busca por tecnologias que impeçam a formação e crescimento deste tipo de colônia.

Antigamente, extratos vegetais e óleos essenciais eram utilizados em diversos tratamentos de saúde como agentes antivirais e anti-inflamatórios devido a sua eficiente atividade antimicrobiana (Rotolo *et al.*, 2016). Nos dias de hoje, esses óleos naturais são utilizados em inúmeras aplicações farmacêuticas e terapêuticas, incluindo medicamentos para resfriados, perfumes, na odontologia, como conservantes de alimentos e, recentemente, também no campo da conservação sustentável do patrimônio cultural (Inouye, Takizawa e Yamaguchi, 2001; Rotolo *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2012).

Ao longo do tempo muitas tecnologias baseadas em plasmas foram desenvolvidas, sendo a maioria delas fundamentadas em plasmas frios que oferecem ambientes altamente reativos que podem ser condicionados para não gerar uma energia térmica substancial, tornando-os adequados para a realização de processos que funcionalizam superfícies dos mais diversos tipos de materiais alterando a morfologia de um substrato a partir da deposição de um filme fino, geralmente com dezenas a centenas de nanômetros de espessura, resultando em modificações que confere propriedades que podem atuar combatendo a formação de biofilme nessas superfícies através da distribuição de grupos funcionais, hidrofobicidade e baixos valores de rugosidade. Além disso, os processos de plasma frios utilizam quantidades mínimas de reagentes e nenhum solvente e, portanto, são ecologicamente corretos (Coad *et al.*, 2022).

Utilizar recursos renováveis como precursores para o desenvolvimento de polímeros bioativos que são capazes de minimizar a taxa de adesão bacteriana e crescimento de biofilme em instalações de saúde e na indústria atraiu a atenção de pesquisadores ao redor do mundo. Devido ao seu arsenal terapêutico, metabólitos secundários de plantas, como óleos essenciais e extratos de ervas, demonstraram atividades antibacterianas poderosas em sua forma líquida e vaporizada, permitindo uma ampla aplicação (Murbach Teles Andrade *et al.*, 2014; Nazzaro *et al.*, 2013). Com condições de síntese apropriadas, a polimerização desses metabólitos por plasma pode ajudar a reter a funcionalidade antimicrobiana inerente dos compostos dentro dos filmes poliméricos sólidos que apresentam um potencial de resistir à formação de biofilmes em sua superfície. Essas propriedades tornam os óleos essenciais e seus derivados candidatos promissores para aplicações de revestimentos bioativos.

Este artigo de revisão tem como objetivo apresentar conceitos da técnica de polimerização por plasma frio, o funcionamento da adesão bacteriana e formação de biofilmes em superfícies, e por fim, os últimos avanços na tecnologia de síntese de filmes finos poliméricos derivados de metabólitos secundários de plantas para a inibição e combate a atividade microbiana.

## 2. POLIMERIZAÇÃO A PLASMA EM BAIXAS TEMPERATURAS

O plasma é popularmente conhecido como o quarto estado da matéria, por definição, é um gás em elevado estado de energia contendo elétrons livres, íons, espécies neutras e fótons, sendo descrito pela primeira vez por Irving Langmuir em 1920, enquanto trabalhava no desenvolvimento de tubos de vácuo para a passagem de grandes correntes elétricas (Thiry *et al.*, 2016). Na natureza o plasma é encontrado nos raios gerados em tempestades, estrelas e no próprio fogo, por exemplo, em muitos casos é gerado por reações exotérmicas que fornecem energia térmica ao sistema ionizando os átomos (Friedrich, 2011, 2012). Entretanto, para fins tecnológicos a elevada temperatura dos plasmas térmicos limita a sua aplicação.

As partículas que constituem o plasma estão em constante movimento e colidem entre si, transferindo energia cinética umas às outras. Cada grupo de partícula é caracterizada por uma temperatura relacionada à sua energia, onde é geralmente expressa pela unidade de Elétron-volt (eV), sendo 1 eV equivalente à 11606 K. Estes termos de energia do plasma podem ser classificados em duas classes: o plasma em equilíbrio termodinâmico e o plasma em não-equilíbrio termodinâmico. No primeiro caso, todas as partículas são caracterizadas por uma temperatura única, onde,  $T_{\text{elétrons}} = T_{\text{neutras}} = T_{\text{íons}}$ . Por outro lado, em plasmas fora do equilíbrio, a temperatura do elétron difere intensamente quando comparado às partículas mais pesadas como os íons e espécies neutras, onde,  $T_{\text{elétrons}} \gg T_{\text{íons}} \geq T_{\text{neutras}}$ . No plasma de não-equilíbrio, enquanto a temperatura do elétron normalmente varia entre 1 a 10 eV, as temperaturas das demais partículas estão próximas a temperatura ambiente, com valores de 0,025 eV (298 K) (Thiry *et al.*, 2016). Embora a temperatura dos elétrons seja alta, sua baixa densidade e pouca capacidade de transferir calor permitem que as superfícies ao redor do plasma permaneçam em temperaturas relativamente baixas (Bogaerts *et al.*, 2002), essa propriedade de não equilíbrio se torna particularmente atraente para o processamento de materiais, pois os elétrons podem induzir diversas reações químicas sem alterar a estrutura do material através da temperatura excessiva (Michelmore *et al.*, 2013).

Os processos à base de plasma de não-equilíbrio termodinâmico possuem algumas vantagens significativas, como a baixa temperatura de operação, que permite a funcionalização uma ampla gama de substratos, a ausência da necessidade de solventes, tornando essas técnicas correspondentes com a busca moderna por tecnologias ecologicamente amigáveis (Thiry *et al.*, 2016). Outra vantagem importante desses processos é sua versatilidade, permitindo modular as propriedades de uma determinada superfície, como por exemplo, a morfologia, rugosidade e composição química do material depositado a partir do ajuste dos parâmetros operacionais utilizados na síntese do material (Michelmore *et al.*, 2013; Struzzi *et al.*, 2015).

A funcionalização de superfícies metálicas baseada na aplicação do plasma a em precursores orgânicos é cada vez mais explorada no meio acadêmico, através do método de polimerização a plasma, que permite a formação de filmes finos orgânicos sólidos e possui importantes aplicações na fabricação de superfícies antibacterianas (Bazaka *et al.*, 2011; Vasilev, Cook e Griesser, 2009), super-hidrofóbicas (Henry *et al.*, 2012), biochips de proteínas (Jonkheijm *et al.*, 2008), imobilização de biomoléculas para crescimento celular (Bhatt, Pulpytel e Arefi-Khonsari, 2015; Coad *et al.*, 2013; Haycock, 2011) e revestimentos de liberação controlada de drogas (Bhatt *et al.*, 2013; Vasilev *et al.*, 2010).

A deposição de filmes sólidos a partir de compostos orgânicos utilizando descargas elétricas não é nova, foi relatada pela primeira vez por em 1796 (Thiry *et al.*, 2016). Desde então esses revestimentos têm se tornado alvo de estudos e caracterizações, sua natureza difere dos polímeros convencionais que possuem blocos de repetição periódicos, os polímeros produzidos via polimerização a plasma são formados por uma rede aleatória de ligações, apresentando uma

densidade de reticulação significativamente maior que os polímeros convencionais (Figura 1) (Kramer, Yeh e Yasuda, 1989; Merche, Vandecasteele e Reniers, 2012a).

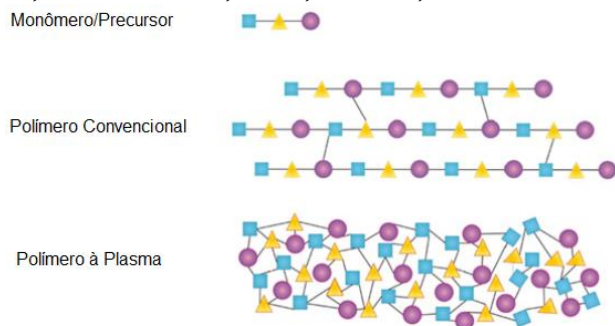


Figura 1: Diferenças entre as estruturas do precursor, polímero convencional e polímero formado por polimerização a plasma. Adaptado de (Thiry *et al.*, 2016).

Como os elétrons são os transmissores de energia no regime do plasma, a sua magnitude e densidade são de crucial importância para compreender os processos reativos que ocorrem na fase gasosa. A partir da teoria cinética dos gases, a função de distribuição de energia dos elétrons pode ser aproximada através da equação de Maxwell-Boltzmann, como ilustrado na Figura 2 (Thiry *et al.*, 2016). Os elétrons presentes no sistema de polimerização a plasma geralmente possuem uma energia cinética em torno de 1 a 2 eV, valores que englobam a faixa das energias de ligações dos compostos orgânicos (Figura 2), assim, os elétrons excitados com alta energia cinética colidem com as moléculas do precursor e como a sua típica distribuição energética engloba a faixa da energia das ligações orgânicas, o precursor tem suas ligações fragmentadas (Chabert e Braithwaite, 2011; Friedrich, 2012).

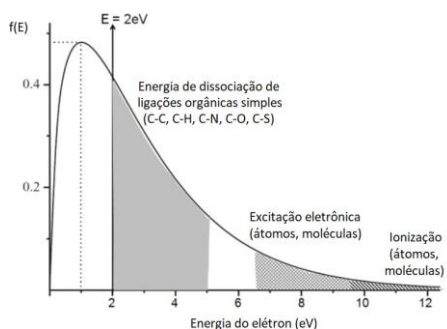


Figura 2: Distribuição energética de Maxwell-Boltzmann dos elétrons presentes em descargas de baixa pressão. Adaptado de Gerchman, 2019.

A primeira etapa da polimerização consiste na volatilização de um precursor orgânico em um sistema isolado de deposição. A ativação do plasma ocorre através da fase gasosa e provoca colisões aleatórias entre elétrons energéticos e moléculas do precursor, sucedendo a ocorrência de reações de dissociação de precursores resultando na formação de radicais. Após a fragmentação do precursor ocorre à recombinação dos radicais formados no plasma em uma rede de ligações cruzadas, o crescimento da cadeia polimérica envolve tanto reações na fase gasosa quanto na superfície do material (Guimond *et al.*, 2011; Yasuda, 1981).

O mecanismo de formação mais aceito foi proposto por Yasuda, 1985, e está esquematicamente representado na Figura 3. Segundo ele, após a ativação do plasma ocorre à radicalização do monômero, então dois tipos de reações de formação do filme podem ocorrer: a polimerização induzida por plasma (ciclo 1) e polimerização no regime de plasma (ciclo 2). No ciclo 1 não ocorre a fragmentação completa das moléculas de precursor e a cadeia polimérica é formada através da combinação de unidades moleculares reativas como radicais livres e fragmentos em estados excitados ou ionizados. Sendo assim, é esperado que o filme possua uma estrutura parecida com o monômero original. Quando a polimerização ocorre de forma prioritária no regime de plasma (ciclo 2), existe a fragmentação do precursor pela colisão com elétrons excitados que gera uma grande quantidade de espécies reativas permitindo a

recombinação dos fragmentos, dando origem a novas cadeias poliméricas (Alba-Perez *et al.*, 2020; Bones, 2019)

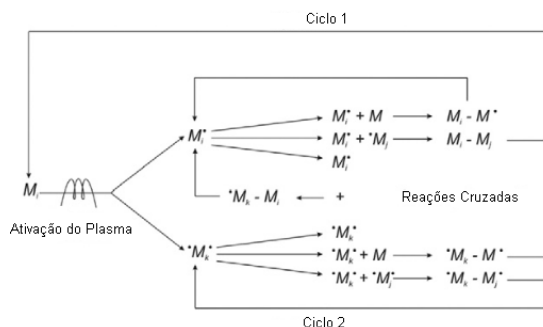


Figura 3: Descrição esquemática do mecanismo de polimerização a plasma em etapas. Adaptada de (Thiry *et al.*, 2016).

A composição química e grau de reticulação dos filmes finos são diretamente afetados pelos parâmetros de deposição como a fonte de energia do plasma, potência aplicada na descarga, pressão do sistema, fluxo e concentração do precursor e temperatura do substrato (Merche, Vandencastele e Reniers, 2012; Wong *et al.*, 2016; Yasuda, 1985). Além disso, alguns parâmetros geométricos relacionados ao reator também afetam as propriedades do revestimento. Popularmente dois modelos de reatores são utilizados nas pesquisas envolvendo a polimerização a plasma de compostos orgânicos, estão representados na Figura 4 (Gerchman, 2019).

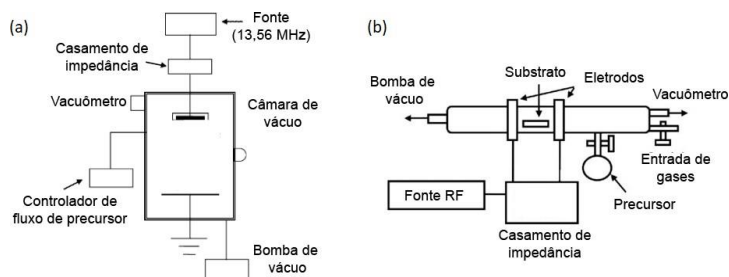


Figura 4: Reatores de polimerização por plasma frio mais comuns utilizados na literatura. (a) Eletrodos internos paralelos; (b) Eletrodos externos paralelos. (Gerchman, 2019).

Na Figura 4(a) é apresentado o reator de placas paralelas internas, nesse sistema os elétrons que possuem uma mobilidade muito maior que os íons e espécies neutras, carregam negativamente o eletrodo metálico formando uma região próxima ao eletrodo com deficiência de elétrons e consequentemente concentrada de íons positivos, essa região gera uma diferença de potencial que acelera os radicais em direção ao eletrodo metálico em que a amostra se encontra, agindo como um capacitor entre o plasma e o metal, tal fenômeno é conhecido como plasma sheath (“Plasma, the fourth state of matter”, 2021).

Os filmes produzidos via plasma de baixa temperatura, com uma fonte de energia alternada e em baixa pressão são capazes de possuir uma boa estabilidade química, fortes ligações covalentes com o substrato e alta retenção de grupos funcionais do monômero original, tornando possível ajustar através dos parâmetros operacionais a funcionalidade química e morfologia da superfície (Bazaka *et al.*, 2015).

### 3. CONTAMINAÇÃO DE SUPERFÍCIES POR BIOFILME

Na natureza, os micro-organismos raramente vivem em colônias isoladas de uma única espécie, mas sim em sistemas biológicos organizados em uma comunidade funcional e coordenada chamada de biofilme. O biofilme é considerado um polímero complexo contendo uma quantidade de água correspondente a várias vezes seu peso seco. Consistem em uma matriz feita de polissacarídeos, DNA e proteínas (Kumar, Roy e Dey, 2021; Perez e Graziano, 2006). Dentro da comunidade de um biofilme, os micro-organismos são capazes de compartilhar nutrientes e são protegidos de fatores danosos do ambiente, como a dissecação, antibióticos e o sistema imune corporal (Tortora *et al.*, 2016).

As células bacterianas são capazes de aderir a praticamente todos os tipos de superfícies naturais e artificiais. Os microorganismos se movem ou são movidas do ambiente para uma superfície através e pelos efeitos de forças físicas, como forças de atração de van der Waals, forças gravitacionais, efeito da carga eletrostática da superfície e interações hidrofóbicas (Katsikogianni e Missirlis, 2004).

Após de aderidas em superfícies sólidas, ocorre a fixação e o crescimento do biofilme através de um processo de cinco etapas, sendo elas a (i) adesão reversível, (ii) adesão irreversível; (iii) desenvolvimento inicial; (iv) maturação e (v) liberação das células persistentes (Figura 5) (O'Toole, Kaplan e Kolter, 2000; Rabin *et al.*, 2015; Rasamiravaka *et al.*, 2015). A primeira etapa consiste na adesão das bactérias em sua forma planctônica, acontece de forma reversível e é mantida por interações físico-químicas não específicas entre os organismos e o substrato. A segunda fase consiste na mudança do estágio reversível para o irreversível, pois passam a produzir substâncias que serão responsáveis pela manutenção da adesão e da camada peptídica que envolve o biofilme. Na terceira e quarta etapa há o início da formação de microcolônias e do desenvolvimento da estrutura do biofilme maduro. A última fase da formação do biofilme ocorre quando o ambiente não é mais favorável para sua manutenção, e consiste no descolamento do biofilme desenvolvido em forma de células planctônicas que depois de desprendidas podem colonizar novos ambientes, reiniciando a formação de novos biofilmes (O'Toole, Kaplan e Kolter, 2000; Rabin *et al.*, 2015; Stoodley *et al.*, 2002).

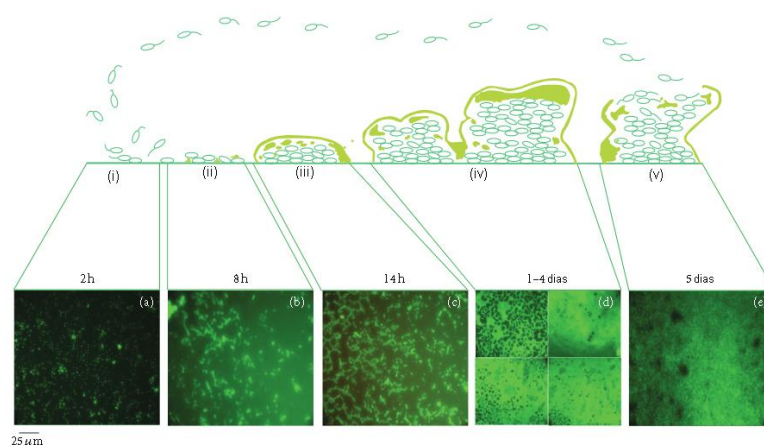


Figura 5: Esquema do ciclo de vida da espécie *P. aeruginosa* cultivada em meio de glicose. Imagens de microscopia de fluorescência i com aumento de 400x apresentam estágios de desenvolvimento do biofilme. No estágio I, as bactérias planctônicas aderem a uma superfície sólida. No estágio II, a adesão torna-se irreversível. O estágio III se inicia a fundação da microcolônia. O estágio IV mostra a maturação e o crescimento do biofilme em santuários bacterianos tridimensionais. No estágio V, ocorre a dispersão e as células planctônicas livres são liberadas do aglomerado de para colonizar novos locais. Adaptado de (Rasamiravaka *et al.*, 2015).

Um grande número de espécies de bactérias causadoras de infecções é capaz de sobreviver

e se desenvolver mesmo em locais limpos, como clínicas e hospitais. Entre esses organismos estão os do tipo Gram-positivo *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, e *Streptococcus viridans* e do tipo Gram-negativo *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, e *Pseudomonas aeruginosa* (Landini *et al.*, 2010). Tais espécies representam uma ameaça considerável para a sociedade atual, por exemplo, a espécie *P. aeruginosa* é um patógeno multirresistente a antibióticos, atua como um microrganismo oportunista em hospedeiros imunocomprometidos causando infecções pulmonares agudas e crônicas que resultam em altas taxas de morbidade e mortalidade (Murray, Porreca e Cowan, 1988). As bactérias do gênero *Salmonella* causam doenças em humanos e animais, e estão associadas a graves infecções causadas através do consumo e da ingestão de alimentos contaminados, sendo a salmonelose uma das principais zoonoses enfrentadas pela saúde pública em todo o mundo (Costa *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2006). *S. aureus* e *S. epidermidis* comprovadamente aderem com facilidade em superfícies metálicas e formam biofilmes em implantes médicos, como parafusos e placas ortopédicas, causando a biocorrosão e falha potencial do material (Pradeep Kumar, Easwer e Maya Nandkumar, 2013).

Condições hidrodinâmicas, fisiológicas e ecológicas influenciam diretamente a estrutura do biofilme. Por exemplo, a espessura média de um biofilme formado em boas condições pela espécie *P. aeruginosa* é de cerca de 24µm, enquanto para a *S. epidermidis* a espessura média do biofilme é relativamente maior, apresentando 32,3 µm de espessura, em um meio propício para seu desenvolvimento o biofilme pode chegar a 7 mais de 400 µm em algumas espécies (Ma *et al.*, 2009).

A eficácia da aderência dos micro-organismos a uma superfície metálica tem como base múltiplos aspectos, como forma e tamanho da célula, a topografia do substrato e o ângulo de contato (hidrofobicidade/hidrofilicidade) da superfície do material. Além disso, é compreendido que bactérias aderem preferencialmente a superfícies mais rugosas por três razões, a presença de uma maior área de contato disponível para fixação, proteção contra forças de cisalhamento e alterações químicas que causam interações físico-químicas fortes com a superfície (Ammar *et al.*, 2015; Kumar, Roy e Dey, 2021; Scheuerman, Camper e Hamilton, 1998), enquanto que superfícies super lisas não favorecem a adesão bacteriana e formação de biofilme (Taylor *et al.*, 1998).

A interação entre os micro-organismos e a superfície é influenciada diretamente pela topografia, acredita-se que a fixação, proliferação e diferenciação das células sejam afetadas por estruturas de pico e vale que abrangem escalas micrométricas e nanométricas (Truong *et al.*, 2010). Portanto, visando obter a atividade bactericida, é importante investigar os parâmetros de rugosidade que ordenam a geometria da superfície, entre eles temos a rugosidade média ( $R_a$ ), a rugosidade quadrática média ( $R_q$ ) e a rugosidade máxima ( $R_z$ ). Mesmo amostras com a composição química das superfícies idênticas podem apresentar diferentes comportamentos de adesão celular devido a diversificadas arquiteturas e rugosidades da superfície (Hasan, Crawford e Ivanova, 2013). Por exemplo, Medilanski *et al.*, 2002, relataram em seus estudos que superfícies de aço inoxidável AISI 304 com rugosidades na escala submicrométrica ( $R_a = 0,16 \mu m$ ) apresentaram adesão bacteriana mínima em relação a superfícies mais ásperas, onde a adesão bacteriana ocorreu preferencialmente ao longo dos sulcos submicrométricos, como marcas de lixa do acabamento superficial.

Apesar da evolução tecnológica envolvendo os antibióticos sintéticos desde a chegada da penicilina, o uso excessivo desses medicamentos está gradualmente tornando-os ineficazes. Antigamente, extratos vegetais e óleos essenciais eram utilizados em diversos procedimentos de tratamento anti-inflamatórios e antivirais, devido à sua atividade antimicrobiana. Pensando em novas formas de combater o crescimento de biofilmes em materiais metálicos uma estratégia promissora foi inspirada na bioatividade intrínseca de metabólitos secundários de plantas através da técnica de polimerização a plasma frio desses componentes.

#### 4. POLIMERIZAÇÃO A PLASMA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS

Os óleos essenciais possuem natureza renovável, são de baixo custo, e estão disponíveis em grandes quantidades comerciais, além disso, apresentam baixa toxicidade em comparação com outros precursores orgânicos utilizados convencionalmente na polimerização a plasma, tais fatores os tornam apropriados para a aplicação de materiais funcionais ecologicamente corretos (Swamy, Akhtar e Sinniah, 2016). Mais de 250 tipos desses óleos sintetizados naturalmente são comercializados anualmente no mercado global, estimando um valor de mercado de 1,2 bilhão de dólares (Swamy, Akhtar e Sinniah, 2016).

Fisiologicamente os óleos essenciais são produzidos por diferentes estruturas secretoras que podem estar localizadas tanto em uma parte específica da planta, como nela por um todo (Vitti e Brito, 2003). São compostos por misturas complexas de substâncias orgânicas voláteis e lipofílicas, geralmente possuem um odor marcante e são líquidas em condições ambiente (Elaissi *et al.*, 2011). Essas misturas possuem uma alta gama de constituintes químicos e grupos funcionais das mais diversas classes: hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos e ácidos orgânicos (Elaissi *et al.*, 2011; Takahashi, Kokubo e Sakaino, 2004). Entre eles, os terpenos são os principais componentes estudados para a produção de filmes finos via polimerização a plasma, alguns exemplos de terpenos são apresentados na Figura 6 (Alvarez *et al.*, 2020; Bayram e Simsek, 2018; Easton, Jacob e Shanks, 2009; Gerchman *et al.*, 2019; Jacob *et al.*, 2008, 2014). Suas ligações saturadas, insaturadas e estruturas cíclicas oxigenadas facilitam a polimerização catiônica, atuando como um caminho para a produção de polímeros biodegradáveis (Bazaka *et al.*, 2015; Thiry *et al.*, 2016).

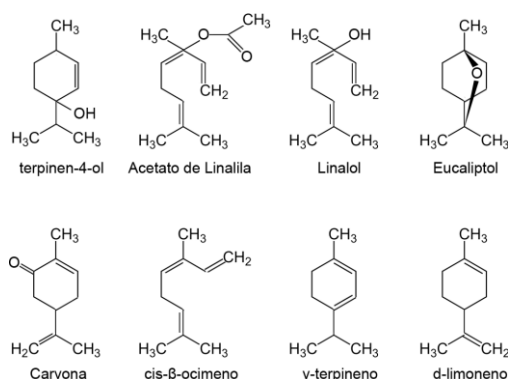


Figura 6: Estrutura química dos principais terpenos presentes em óleos essenciais. Gerchman, 2019.

A polimerização a plasma frio dos grupos bioativos do 1,8-cineol foi realizada por Pegalajar-Jurado *et al.*, 2014, em um reator do tipo de eletrodos paralelos externos. Com 20W de potência os filmes apresentaram valores moderadamente hidrofóbicos de ângulo de contato ( $\sim 80^\circ$ ) que proporcionaram uma atividade bactericida com a capacidade de reduzir a adesão de células de *E. coli* e *S. aureus* em 98% e 64%, respectivamente, em comparação com o branco 73. No mesmo caminho, Mann e Fisher, 2017, avaliaram o polímero a plasma do monômero majoritário do óleo essencial de eucalipto variando a potência aplicada na deposição do filme (50-150W). O desempenho bactericida avaliado por porcentagem de cobertura superficial reduziu a área do biofilme, em comparação aos controles, em 35% para *E. coli* e 45% para *S. aureus*. Estes estudos demonstram que a quantidade de cobertura do biofilme pode estar relacionada com a hidrofobicidade dos revestimentos, uma vez que, quando os filmes de 1,8-cineol foram produzidos com plasma em atmosfera rica em  $H_2O$  visando obter uma superfície hidrofílica, o ângulo de contato com a água diminuiu e a área de cobertura do biofilme bacteriano aumentou, enquanto demonstrou uma diminuição da propagação do biofilme em valores maiores de molhabilidade, Figuras 7 e 8.

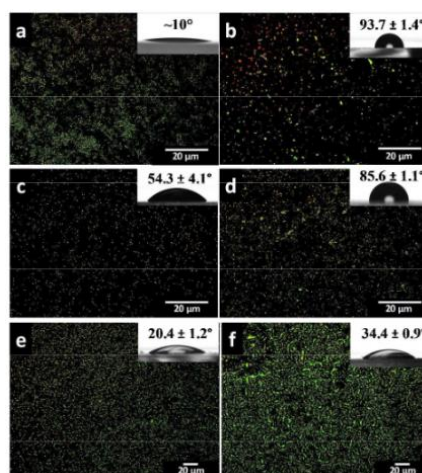


Figura 7: Imagens de microscopia de fluorescência da espécie *S. aureus* aderidas após 24 h de incubação a a) lâminas de vidro de controle b) controle hidrofóbico; c) polímero de plasma com pressão e potência baixa (15 mTorr 50 W); d) polímero de plasma com pressão e potência alta (100 mTorr 100 W); (e) polímero de plasma tratado com H<sub>2</sub>O(v) em pressão e potência baixa; e (f) polímero de plasma tratado com H<sub>2</sub>O(v) em pressão e potência alta. A coloração verde indica bactérias viáveis, enquanto o vermelho indica as bactérias mortas. (Mann e Fisher, 2017).

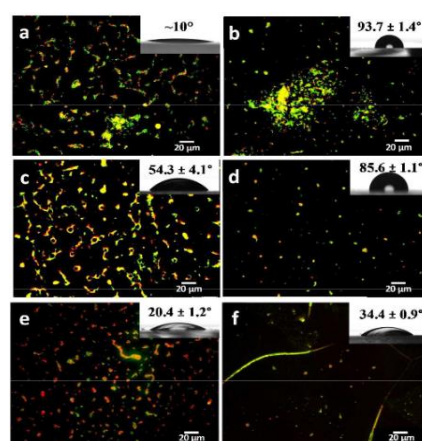


Figura 8: Imagens de microscopia de fluorescência da espécie *E. coli* aderidas após 24 h de incubação a a) lâminas de vidro de controle b) controle hidrofóbico; c) polímero de plasma com pressão e potência baixa (15 mTorr 50 W); d) polímero de plasma com pressão e potência alta (100 mTorr 100 W); (e) polímero de plasma tratado com H<sub>2</sub>O(v) em pressão e potência baixa; e (f) polímero de plasma tratado com H<sub>2</sub>O(v) em pressão e potência alta. A coloração verde indica bactérias viáveis, enquanto o vermelho indica as bactérias mortas. (Mann e Fisher, 2017)

Apesar de superfícies hidrofóbicas demonstrem ser eficientes contra o crescimento do biofilme, não é a única propriedade de superfície relevante a ser explorada. O terpinen-4-ol é um componente ativo do óleo de melaleuca, por se tratar de um terpeno alcoólico monocíclico seu comportamento antibacteriano em filmes produzidos por plasma foi amplamente estudado, Bazaka *et al.*, 2011, constatou que a síntese com potências mais baixas (10W) resultam em uma conservação parcial de grupos biologicamente ativos do precursor original devido a menor taxa de fragmentação do precursor, mesmo apresentando uma superfície hidrofílica (62,7°) cerca de 90% das células de *S. aureus* retidas no filme eram inviáveis. Quando produzidos em maior potência (25 W), esses filmes perderam sua atividade biocida, e promoveram adesão e proliferação das células bacterianas mesmo com valores de ângulo de contato mais elevados (67°). Segundo os autores, a modificação das propriedades do material pela polimerização a plasma não só alterou a morfologia da superfície, mas também a sua composição química. O efeito combinado desses dois parâmetros pode influenciar fortemente a magnitude da adesão e

proliferação bacteriana, preservando as propriedades do material inerentes ao substrato, como as propriedades mecânicas e físico-químicas.

Bazaka *et al.*, 2020, polimerizou via plasma frio de baixa pressão um filme fino de terpinen-4-ol sobre quatro substratos de titânio diferentes. As amostras metálicas utilizadas neste estudo possuem topografias de superfície distintas que foram obtidas através do tratamento de superfície via polimento químico (CMP-Ti), polimento mecânico (MP-Ti), prensagem angular em canais com seção transversal constante (ECAP) e ablação a laser de femtossegundo (FLA-Ti). Através das análises de caracterização das amostras revestidas foi observado que as superfícies de titânio funcionalizadas diferiram em suas propriedades físico-químicas, principalmente na molhabilidade e rugosidade, como por exemplo, valores de  $87,3^\circ$  e  $R_a = 0,8$  nm,  $R_z = 22,9$  nm para o polimento químico (CMP-Ti) e  $68,5^\circ$  e  $R_a = 41,7$  nm,  $R_z = 310,0$  nm com polimento mecânico (MP-Ti).

À medida que a rugosidade da superfície aumentou, os revestimentos de plasma tornaram-se menos uniformes e a sua atividade antibacteriana contra as espécies *P. aeruginosa* e *S. aureus* diminuiu. Os autores explicam que quando o plasma reativo entra em contato com as amostras, as espécies de polímeros começam a se depositar primeiramente nos picos topográficos na superfície do titânio, e isso pode levar à formação de um forte campo elétrico tipo dipolo-dipolo que aumenta o fluxo de íons formados em direção à superfície. Essa distribuição de íons resulta na deposição aleatória do polímero gerando um preenchimento gradual das lacunas e vazios da superfície. Assim, substratos com menor rugosidade máxima ( $R_z$ ) tendem a ser mais lisos e uniformes em sua composição química e espessura, e por esta razão tem o melhor desempenho antimicrobiano. Além do mais, os autores constataram que a rugosidade de um material pode interferir na distribuição de grupos funcionais ao longo da superfície funcionalizada (Bazaka *et al.*, 2020).

Superfícies ricas em grupos funcionais contendo oxigênio como  $-OH$  e  $C=O$ , registraram maior atividade anti-incrustante e biocida em comparação com polímeros mais densos em cadeias de hidrocarbonetos (Bazaka *et al.*, 2015; Tegoulia e Cooper, 2002). Além disso, estudos mais recentes utilizaram a polimerização por plasma simultânea de precursores derivados de metabólitos secundários de plantas (como o óleo essencial de gerânio e o terpinen-4-ol) e acetilacetato de zinco através da decomposição térmica do sal, este método resultou em filmes poliméricos orgânicos/inorgânicos mistos (Al-Jumaili *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2020). Ambos os trabalhos demonstraram uma atividade bactericida significativa para bactérias do tipo gram-positivo e gram-negativo, chegando a apresentar redução percentual das células viáveis de 40% a 70% para os revestimentos polimerizados de terpinen-4-ol sozinhos, enquanto a incorporação do componente de zinco aumentou a inibição do crescimento do biofilme para cerca de 85% (Kumar *et al.*, 2020).

Chan *et al.*, 2016, fabricaram revestimentos poliméricos resultantes da polimerização por plasma do terpeno carvona, obtendo um filme liso e altamente reticulado que demonstrou um ótimo desempenho antimicrobiano contra bactérias gram-negativas e gram-positivas (redução de 86% em *E. coli* e redução de 84% em *S. aureus*), outro resultado relevante encontrado pelos autores foi a ausência de efeito citotóxico para células humanas *in vitro*. A Figura 9 demonstra claramente distorção da membrana, criação de poros e ruptura da estrutura do biofilme ligada à superfície do revestimento a plasma de carvona em comparação com os microorganismos aderidos ao substrato.

Além da disponibilidade de grupos funcionais provenientes da fragmentação e recombinação obtidos na polimerização a plasma, especulou-se que monômeros não fragmentados presos dentro do polímero durante a deposição podem ser misturados durante a formação do polímero (Bazaka *et al.*, 2015), contribuindo assim para a inibição da formação de biofilme devido às propriedades intrínsecas dos precursores em seus estados naturais (Aggarwal *et al.*, 2002; Ait-Ouazzou *et al.*, 2011; Cimanga *et al.*, 2002; Damjanović-Vratnica *et al.*, 2011; Sonboli, Babakhani e Mehrabian, 2006). Acredita-se que, assim como o monômero natural, o agente dissolvido no polímero interferiria na parede celular bacteriana, levando à supressão da biossíntese celular, causando a perda da integridade da membrana e eventual morte do microorganismo (Bazaka *et al.*, 2015).

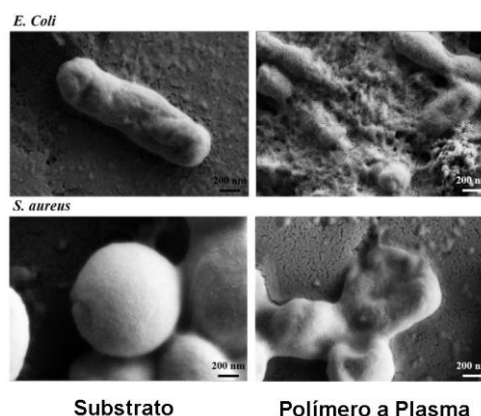


Figura 9: Espécies *E. Coli* e *S. Aureus* aderidas ao substrato e ao filme polimérico de carvona. Adaptado de Chan *et al.*, 2016.

## 5. CONCLUSÃO:

Compreender uma forma de preservar as características bioativas dos óleos essenciais em seu estado natural em um filme fino é fundamental para o desenvolvimento de uma ampla gama de revestimentos bactericidas. Os materiais poliméricos que foram obtidos a partir de precursores de origem natural, derivados de recursos renováveis, apresentam uma alternativa favorável para a produção de materiais antimicrobianos e biocompatíveis. A partir de propriedades que alteram as características de uma superfície e que são cruciais no combate à formação de biofilme como a rugosidade, molhabilidade e distribuição de grupos funcionais, os estudos apresentados neste artigo de revisão encontraram êxito em frear o desenvolvimento patógenos a partir de uma estratégia ecologicamente amigável e de baixo custo. No entanto, informações sobre o desempenho e estabilidade do material em longo prazo e sobre influência de condições mais agressivas requerem mais estudos. Além disso, embora um pequeno número de estudos sistemáticos tenha demonstrado uma atividade antimicrobiana promissora, mais pesquisas em sistemas *in vivo* são necessárias para que a aplicação real desses revestimentos seja viabilizada. Se tratando de superfícies metálicas, os revestimentos obtidos via polimerização a plasma frio de precursores naturais nesses substratos podem atuar diretamente nas áreas que mais carecem da atividade bactericida oferecidas pelos metabólitos secundários de plantas, como na área da saúde em biomateriais e instrumentos cirúrgicos, e na indústria alimentícia, desenvolvendo um papel como agente limitante de diversas enfermidades que preocupam a sociedade atual.

## 6. REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S.; AHMAD, A.; SANTHA KUMAR, T. R.; GUPTA, V. K.; KUMAR, S. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 1, p. 59–63, 2002.
- AIT-OUAZZOU, A.; LORÁN, S.; BAKKALI, M.; LAGLAOUI, A.; ROTA, C.; HERRERA, A.; PAGÁN, R.; CONCHELLO, P. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 14, p. 2643–2651, 2011.
- ALBA-PEREZ, A.; JAYAWARNA, V.; CHILDS, P. G.; DALBY, M. J.; SALMERON-SANCHEZ, M. Plasma polymerised nanoscale coatings of controlled thickness for efficient solid-phase presentation of growth factors. **Materials Science and Engineering: C**, v. 113, p. 110966, 1 ago. 2020.
- AL-JUMAILI, A.; MULVEY, P.; KUMAR, A.; PRASAD, K.; BAZAKA, K.; WARNER, J.; JACOB, M. V. Eco-friendly nanocomposites derived from geranium oil and zinc oxide in one step approach. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 5973, 12 abr. 2019.

ALVAREZ, K. V.; EUSEBIO, B.; REYES, J. J.; PECHARDO, J. Synthesis and Surface Characterization of a Novel Plasma-polymerized ( $\alpha$ -Pinene)-based Thin Film. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 894, n. 1, p. 012009, 1 jul. 2020.

AMMAR, Y.; SWAILES, D.; BRIDGENS, B.; CHEN, J. Influence of surface roughness on the initial formation of biofilm. **Surface and Coatings Technology**, v. 284, p. 410–416, dez. 2015.

BATONI, G.; MAISETTA, G.; ESIN, S. Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1858, n. 5, p. 1044–1060, maio 2016.

BAYRAM, O.; SIMSEK, O. A study on the optical, chemical and dielectric properties of PPCIN thin films derived from essential oil compounds using RF plasma polymerisation technique. **Vacuum**, v. 156, p. 198–204, out. 2018.

BAZAKA, K.; JACOB, M. V.; TRUONG, V. K.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. The Effect of Polyterpenol Thin Film Surfaces on Bacterial Viability and Adhesion. **Polymers**, v. 3, n. 1, p. 388–404, mar. 2011.

BAZAKA, K.; JACOB, M.; CHRZANOWSKI, W.; OSTRIKOV, K. Anti-bacterial surfaces: natural agents, mechanisms of action, and plasma surface modification. **RSC Advances**, v. 5, n. 60, p. 48739–48759, 2015.

BAZAKA, O. *et al.* Effect of titanium surface topography on plasma deposition of antibacterial polymer coatings. **Applied Surface Science**, v. 521, p. 146375, ago. 2020.

BHATT, S.; PULPYTEL, J.; AREFI-KHONSARI, F. Low and atmospheric plasma polymerisation of nanocoatings for bio-applications. **Surface Innovations**, v. 3, 18 mar. 2015.

BHATT, S.; PULPYTEL, J.; MIRSHAHI, M.; AREFI-KHONSARI, F. Plasma Co-polymerized Nano Coatings - As a Biodegradable Solid Carrier for Tunable Drug Delivery Applications. **Polymer**, v. 54, p. 4820–4829, 3 jul. 2013.

BOGAERTS, A.; NEYTS, E.; GIJBELS, R.; MULLEN, J. VAN DER. Gas discharge plasmas and their applications. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 4, p. 609–658, 5 abr. 2002.

BONES, B. L. Filmes finos derivados de hexametildissiloxano e isopropanol depositados por polimerização à plasma : avaliação do processo de deposição e caracterização dos filmes obtidos. 2019.

CHABERT, P.; BRAITHWAITE, N. **Physics of Radio-Frequency Plasmas**. Cambridge: Cambridge University Press, 2011.

CHAN, Y. W.; SIOW, K. S.; NG, P. Y.; GIRES, U.; YEOP MAJLIS, B. Plasma polymerized carvone as an antibacterial and biocompatible coating. **Materials Science and Engineering: C**, v. 68, p. 861–871, 1 nov. 2016.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 213–220, 1 fev. 2002.

COAD, B. R.; FAVIA, P.; VASILEV, K.; GRIESSER, H. J. Plasma polymerization for biomedical applications: A review. **Plasma Processes and Polymers**, v. n/a, n. n/a, p. e2200121, 2022.

COAD, B. R.; JASIENIAK, M.; GRIESSER, S. S.; GRIESSER, H. J. Controlled covalent surface immobilisation of proteins and peptides using plasma methods. **Surface and Coatings Technology**, Mechanical and Tribological Properties of Biomedical Coatings and Surface-modified Biomaterials. v. 233, p. 169–177, 25 out. 2013.

COSTA, K. A. D.; FERENZ, M.; SILVEIRA, S. M. DA; MILLEZI, A. F. FORMAÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS EM DIFERENTES SUPERFÍCIES DE INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 2, p. 75–82, 7 jun. 2016.

DAMJANOVIĆ-VRATNICA, B.; ĐAKOV, T.; ŠUKOVIĆ, D.; DAMJANOVIĆ, J. Antimicrobial effect of essential oil isolated from Eucalyptus globulus Labill. from Montenegro. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 29, n. No. 3, p. 277–284, 13 maio 2011.

EASTON, C. D.; JACOB, M. V.; SHANKS, R. A. Fabrication and characterisation of polymer thin-films derived from cineole using radio frequency plasma polymerisation. **Polymer**, v. 50, n. 15, p. 3465–3469, jul. 2009.

EDMISTON, C. E.; MCBAIN, A. J.; ROBERTS, C.; LEAPER, D. Clinical and microbiological aspects of biofilm-associated surgical site infections. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 830, p. 47–67, 2015.

ELAISSI, A.; SALAH, K. H.; MABROUK, S.; LARBI, K. M.; CHEMLI, R.; HARZALLAH-SKHIRI, F. Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species' essential oils. **Food Chemistry**, v. 129, n. 4, p. 1427–1434, 15 dez. 2011.

FRIEDRICH, J. Mechanisms of Plasma Polymerization – Reviewed from a Chemical Point of View. **Plasma Processes and Polymers**, v. 8, n. 9, p. 783–802, 2011.

FRIEDRICH, J. **The plasma chemistry of polymer surfaces: advanced techniques for surface design**. Weinheim, Chichester: Wiley-VCH ; John Wiley [distributor], 2012.

GERCHMAN, D. Deposição e caracterização de filmes finos fabricados através da técnica de polimerização por plasma de D-limoneno. 2019.

GERCHMAN, D.; BONES, B.; PEREIRA, M. B.; TAKIMI, A. S. Thin film deposition by plasma polymerization using d-limonene as a renewable precursor. **Progress in Organic Coatings**, v. 129, p. 133–139, abr. 2019.

GUIMOND, S.; SCHÜTZ, U.; HANSELMANN, B.; KÖRNER, E.; HEGEMANN, D. Influence of gas phase and surface reactions on plasma polymerization. **Surface and Coatings Technology**, PSE 2010 Special Issue. v. 205, p. S447–S450, 25 jul. 2011.

HASAN, J.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 5, p. 295–304, maio 2013.

HAYCOCK, J. W. 3D cell culture: a review of current approaches and techniques. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v. 695, p. 1–15, 2011.

HENRY, F.; RENAUX, F.; COPPÉE, S.; LAZZARONI, R.; VANDENCASTEELE, N.; RENIERS, F.; SNYDERS, R. Synthesis of superhydrophobic PTFE-like thin films by self-nanostructuration in a hybrid plasma process. **Surface Science**, v. 606, p. 1825–1829, 1 dez. 2012.

INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, n. 5, p. 565–573, maio 2001.

JACOB, M. V.; EASTON, C. D.; ANDERSON, L. J.; BAZAKA, K. RF plasma polymerised thin films from natural resources. **International Journal of Modern Physics: Conference Series**, v. 32, p. 1460319, jan. 2014.

JACOB, M. V.; EASTON, C. D.; WOODS, G. S.; BERNDT, C. C. Fabrication of a novel organic polymer thin film. **Thin Solid Films**, v. 516, n. 12, p. 3884–3887, abr. 2008.

JONKHEIJM, P.; WEINRICH, D.; SCHRÖDER, H.; NIEMEYER, C. M.; WALDMANN, H. Chemical Strategies for Generating Protein Biochips. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 50, p. 9618–9647, 2008.

KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y. F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. **European cells & materials**, v. 8, p. 37–57, 1 dez. 2004.

KRAMER, P. W.; YEH, Y. S.; YASUDA, H. Low temperature plasma for the preparation of separation membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 46, n. 1, p. 1–28, 1 set. 1989.

KUMAR, A.; AL-JUMAILI, A.; BAZAKA, K.; MULVEY, P.; WARNER, J.; JACOB, M. V. In-Situ Surface Modification of Terpinen-4-ol Plasma Polymers for Increased Antibacterial Activity. **Materials**, v. 13, n. 3, p. 586, jan. 2020.

KUMAR, S.; ROY, D. N.; DEY, V. A comprehensive review on techniques to create the anti-microbial surface of biomaterials to intervene in biofouling. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 43, p. 100464, jul. 2021.

LANDINI, P.; ANTONIANI, D.; BURGESS, J. G.; NIJLAND, R. Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, n. 3, p. 813–823, 1 abr. 2010.

MA, L.; CONOVER, M.; LU, H.; PARSEK, M. R.; BAYLES, K.; WOZNIAC, D. J. Assembly and development of the Pseudomonas aeruginosa biofilm matrix. **PLoS pathogens**, v. 5, n. 3, p. e1000354, mar. 2009.

MANN, M. N.; FISHER, E. R. Investigation of Antibacterial 1,8-Cineole-Derived Thin Films Formed via Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 42, p. 36548–36560, 25 out. 2017.

MATTILA-SANDHOLM, T.; WIRTANEN, G. Biofilm formation in the industry: A review. **Food Reviews International**, v. 8, n. 4, p. 573–603, 1 jan. 1992.

MEDILANSKI, E.; KAUFMANN, K.; WICK, L. Y.; WANNER, O.; HARMS, H. Influence of the Surface Topography of Stainless Steel on Bacterial Adhesion. **Biofouling**, v. 18, n. 3, p. 193–203, jan. 2002.

MERCHE, D.; VANDENCASTEELE, N.; RENIERS, F. Atmospheric plasmas for thin film deposition: A critical review. **Thin Solid Films**, v. 520, n. 13, p. 4219–4236, 30 abr. 2012a.

\_\_\_\_\_. Atmospheric plasmas for thin film deposition: A critical review. **Thin Solid Films**, v. 520, p. 4219–4236, 30 abr. 2012b.

MICHELMORE, A.; STEELE, D. A.; WHITTLE, J. D.; BRADLEY, J. W.; SHORT, R. D. Nanoscale deposition of chemically functionalised films via plasma polymerisation. **RSC Advances**, v. 3, n. 33, p. 13540–13557, 30 jul. 2013.

MURBACH TELES ANDRADE, B. F.; NUNES BARBOSA, L.; SILVA PROBST, I. DA; FERNANDES JÚNIOR, A. Antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 1, p. 34–40, 2 jan. 2014.

MURRAY, C. W.; PORRECA, F.; COWAN, A. Methodological refinements to the mouse paw formalin test. An animal model of tonic pain. **Journal of pharmacological methods**, v. 20, n. 2, p. 175–186, 1 set. 1988.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451–1474, dez. 2013.

OLIVEIRA, L. A. T. DE; FRANCO, R. M.; CARVALHO, J. C. A. DO P.; ALMEIDA FILHO, E. S. DE; GONÇALVES, P. M. R. Biofilme na indústria de alimentos: revisão. **Hig. aliment**, p. 33–35, 2006.

O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm Formation as Microbial Development. **Annual Review of Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 49–79, 2000.

PEGALAJAR-JURADO, A.; EASTON, C. D.; STYAN, K. E.; MCARTHUR, S. L. Antibacterial activity studies of plasma polymerised cineole films. **J. Mater. Chem. B**, v. 2, n. 31, p. 4993–5002, 2014.

PEREZ, L. S. V.; GRAZIANO, K. U. **Biofilmes e infecção hospitalar: revisão integrativa da literatura científica** Monografias: resumosEEUSP, , 2006.

**Plasma, the fourth state of matter.** , 7 jun. 2021. Disponível em: <[https://piescientific.com/resource\\_pages/resource\\_introduction\\_to\\_plasma/](https://piescientific.com/resource_pages/resource_introduction_to_plasma/)>. Acesso em: 29 set. 2022

PRADEEP KUMAR, S. S.; EASWER, H. V.; MAYA NANDKUMAR, A. Multiple drug resistant bacterial biofilms on implanted catheters - a reservoir of infection. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 61, n. 10, p. 702–707, out. 2013.

RABIN, N.; ZHENG, Y.; OPOKU-TEMENG, C.; DU, Y.; BONSU, E.; SINTIM, H. O. Agents that inhibit bacterial biofilm formation. **Future Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 5, p. 647–671, 2015.

RASAMIRAVAKA, T.; LABTANI, Q.; DUEZ, P.; EL JAZIRI, M. The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 759348, 2015.

ROTOLO, V.; BARRESI, G.; CARLO, E.; GIORDANO, A.; LOMBARDO, G.; CRIMI, E.; COSTA, E.; BRUNO, M.; PALLA, F. Plant extracts as green potential strategies to control the biodeterioration of cultural heritage. v. 7, p. 839–846, 1 jan. 2016.

SCHEUERMAN, T. R.; CAMPER, A. K.; HAMILTON, M. A. Effects of Substratum Topography on Bacterial Adhesion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 208, n. 1, p. 23–33, 1 dez. 1998.

SONBOLI, A.; BABAKHANI, B.; MEHRABIAN, A. R. Antimicrobial Activity of Six Constituents of Essential Oil from *Salvia*. p. 5, 2006.

STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D. G.; COSTERTON, J. W. Biofilms as complex differentiated communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 187–209, 2002.

STRUZZI, C.; SCARDAMAGLIA, M.; HEMBERG, A.; PETACCIA, L.; COLOMER, J.-F.; SNYDERS, R.; BITTENCOURT, C. Plasma fluorination of vertically aligned carbon nanotubes: functionalization and thermal stability. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 6, n. 1, p. 2263–2271, 1 dez. 2015.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIHA, U. R. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, v. 2016, p. 3012462, 2016.

TAKAHASHI, T.; KOKUBO, R.; SAKAINO, M. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 39, n. 1, p. 60–64, 2004.

TAYLOR, R. L.; VERRAN, J.; LEES, G. C.; WARD, A. J. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. **Journal of Materials Science. Materials in Medicine**, v. 9, n. 1, p. 17–22, jan. 1998.

TEGOULIA, V. A.; COOPER, S. L. Staphylococcus aureus adhesion to self-assembled monolayers: effect of surface chemistry and fibrinogen presence. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 3–4, n. 24, p. 217–228, 2002.

THIRY, D.; KONSTANTINIDIS, S.; CORNIL, J.; SNYDERS, R. Plasma diagnostics for the low-pressure plasma polymerization process: A critical review. **Thin Solid Films**, v. 606, p. 19–44, maio 2016.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; FRAZZON, A. P. G.; FONSECA, F. G. DA; FRAZZON, J.; DAIAN, D. S. DE O.; DORVILLÉ, L. F. M. **Microbiologia**. 12ª edição ed. [s.l.] Artmed, 2016.

TRUONG, V. K.; LAPOVOK, R.; ESTRIN, Y. S.; RUNDELL, S.; WANG, J. Y.; FLUKE, C. J.; CRAWFORD, R. J.; IVANOVA, E. P. The influence of nano-scale surface roughness on bacterial adhesion to ultrafine-grained titanium. **Biomaterials**, v. 31, n. 13, p. 3674–3683, 1 maio 2010.

VASILEV, K.; COOK, J.; GRIESSER, H. J. Antibacterial surfaces for biomedical devices. **Expert Review of Medical Devices**, v. 6, n. 5, p. 553–567, set. 2009.

VASILEV, K.; POH, Z.; KANT, K.; CHAN, J.; MICHELMORE, A.; LOSIC, D. Tailoring the surface functionalities of titania nanotube arrays. **Biomaterials**, v. 31, n. 3, p. 532–540, 1 jan. 2010.

VEERACHAMY, S.; YARLAGADDA, T.; MANIVASAGAM, G.; YARLAGADDA, P. K. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of Engineering in Medicine**, v. 228, n. 10, p. 1083–1099, out. 2014.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO. p. 30, 2003.

WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; ZU, Y.; EFFERTH, T. Antibacterial activity and anticancer activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to that of its main components. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 17, n. 3, p. 2704–2713, 5 mar. 2012.

WONG, W. W. H.; RUDD, S.; OSTRIKOV, K.; RAMIASA-MACGREGOR, M.; SUBBIAH, J.; VASILEV, K. Plasma deposition of organic polymer films for solar cell applications. **Organic Electronics**, v. 32, p. 78–82, maio 2016.

YASUDA, H. Glow discharge polymerization. **Journal of Polymer Science: Macromolecular Reviews**, v. 16, n. 1, p. 199–293, 1981.

YASUDA, H. K. **Plasma polymerization**. Oxford: Elsevier Science, 1985.