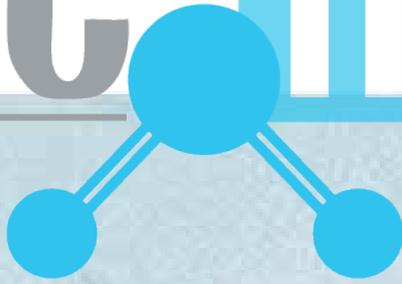


Pure HealthTM CARE



ORION

VIRUS AND BACTERIA SELF-SHIELDING SYSTEM

A oxidação fotocatalítica

Aplicações no contexto da saúde.

Leopoldo Corsi

Esta página foi deixada intencionalmente em branco

1 Índice

2	Prefácio	7
3	Risco de infecção associado à prestação de cuidados	9
3.1	O problema	9
3.2	Transmissão de infecções associada à prestação de cuidados	10
3.3	Vias de transmissão	11
3.4	Sobrevivência dos microrganismos nas superfícies	16
4	Intervenções no ambiente	19
4.1	Sanitização	19
4.2	Limpeza	19
4.3	Desinfecção	19
4.4	Os desinfetantes	20
5	Desinfecção fotocatalítica (PCD) com dióxido de titânio	22
5.1	Mecanismo da fotocatalise	22
5.2	Ação fotocatalítica nos microrganismos	23
5.2.1	Bactérias Gram-negativas	23
5.2.2	Bactérias Gram-positivas	24
5.2.3	Fungos, algas e protozoários	25
5.2.4	Vírus	25
5.2.5	Toxinas bacterianas	26
5.3	Mecanismo de destruição das bactérias	26
5.3.1	Variações da permeabilidade celular	26
5.3.2	Variações microscópicas durante a PCD	27
5.3.3	Estudos espectroscópicos	28
5.4	Papel das ROS no mecanismo de destruição	28
5.5	Importância do contacto entre bactérias e TiO ₂	29
5.6	Mineralização das células	28
5.7	Efeito do fluxo da radiação UV-A	30
6	Bibliografia	33

Esta página foi deixada intencionalmente em branco



Informações sobre o autor

Leopoldo Corsi nasceu em 1970 em Pisa. Em 1998, licenciou-se em Química na Università degli Studi di Pisa e, no mesmo ano, começou a trabalhar como investigador na Next Technology Tecnotessile de Prato onde, em 2003, assumiu o papel de Responsável do Departamento de Investigação Química e Tecnológica. Em 2009, obteve a especialização em Medicina Laboratorial – Bioquímica Clínica e Biologia Molecular Clínica, na Università degli studi di Pisa. Autor de 20 publicações científicas, inventor de 7 patentes internacionais e europeias – três das quais (EP1797936, PCT/IB2011/054794 e PCT/IT2012/000219) sobre a produção de materiais com superfícies nanoestruturadas fotocatalíticas – e coautor de 6 teses académicas. Atualmente, coordena as atividades de investigação do Departamento de Investigação Química e Tecnológica da Next Technology Tecnotessile, relativas ao desenvolvimento de novos materiais e processos para aplicação nos setores da saúde e da segurança.

Esta página foi deixada intencionalmente em branco

2 Prefácio

Este artigo pretende ser uma referência geral para dar apoio e instruir médicos, biólogos, profissionais de saúde, engenheiros e projetistas sobre o processo de oxidação fotocatalítica para o controlo de doenças infecciosas.

Este artigo representa o *background científico* subjacente aos resultados obtidos pelo abaixo assinado autor e os seus colaboradores, em mais de 10 anos de investigação e desenvolvimento no setor das nanotecnologias, conduzidos no Centro de Investigação Next Technology de Prato.

Os resultados das investigações deram lugar inicialmente a três patentes (EP1797936, PCT/IB2011/054794 e PCT/IT2012/000219) para a produção de materiais têxteis e não-têxteis com superfícies fotocatalíticas; mais tarde, originaram produtos comerciais com a marca Pure-Health, graças à empresa Orien de Calenzano, que acreditou fortemente neste projeto.

A Pure-Health consiste num sistema de desinfecção fotocatalítica constituído por um material para o revestimento das paredes, dos pisos e de um sistema de iluminação com lâmpadas fluorescentes de espectro completo (UVA-Vis). O material de revestimento, que pode ser de resina de vidro (rígido) ou policloreto de vinilo (flexível), caracteriza-se pela sua superfície visível ter propriedades fotocatalíticas devido à presença de nanopartículas de dióxido de titânio. A peculiaridade destas superfícies reside no facto de o dióxido de titânio ser nanoestruturado com os componentes orgânicos que constituem a própria superfície. A ativação fotocatalítica destas superfícies ocorre através da utilização de lâmpadas fluorescentes de espectro completo, lâmpadas essas que podem ser instaladas em qualquer tipo de espaço e, sobretudo, podem ser utilizadas na presença de pessoas.

Tudo isto tem como objetivo constituir, não um ponto de chegada, mas sim um ponto de partida para oferecer a todas as pessoas a possibilidade de viver em espaços sãos e seguros, invertendo a tendência dos nossos edifícios de servirem como veículo de transmissão de doenças. O meu raciocínio é refletido nas palavras do Dr. Wladyslaw Jan Kowalski, investigador no Indoor Environment Center (IEC) da Pennsylvania State University, ao afirmar:

“Não encontro um objetivo mais nobre nos tempos que correm do que vencer a guerra contra as doenças, uma guerra que, ao contrário das pandemias contínuas que não trazem qualquer benefício à humanidade, tem o objetivo de ser um meio, salvar vidas em vez de as destruir e transcender todas as barreiras ideológicas, teológicas e culturais”¹.

Leopoldo Corsi



¹ Kowalski W.J. Aerobiological Engineering Handbook / W.J. Kowalski – New York: The McGraw-Hill Companies, Inc, 2006 – p.xii

Esta página foi deixada intencionalmente em branco

3 Risco de infecções relacionado com a prestação de cuidados

De entre os diversos riscos associados aos cuidados de saúde e aos cuidados de saúde social, o risco efetivo, ou seja, o risco para os doentes e para os profissionais de contrair uma infeção no decorrer da prestação de cuidados ou no âmbito de trabalho, ocupa um lugar de destaque face às dimensões do risco, da complexidade dos determinantes e da tendência epidemiológica em crescendo.

3.1 O problema

As principais características do risco de infeção são sintetizadas na Tabela 1. Como é possível observar, as **infecções associadas a prestação de cuidados (IAPC)** são muito frequentes, tanto em doentes em ambiente hospitalar como naqueles que são assistidos em casas de saúde territoriais e no domicílio.

Tabela 1 - Principais características do risco de infeção (Ghirardini & al., 2012)

Frequência elevada <ul style="list-style-type: none">• Hospital• Casas de saúde• Assistência no domicílio	<ul style="list-style-type: none">⇒ 5-8/100 dos doentes internados⇒ 8-12/100 dos doentes estudados num dia⇒ 1/100 dos doentes assistidos
Tendência epidemiológica em aumento <ul style="list-style-type: none">• Risco de contrair uma infeção por cada dia de permanência num hospital a aumentar• Aumento da frequência de infeções graves• Aumento das infeções resistentes a antibióticos• Aumento das transferências de doentes nas redes de serviços	<ul style="list-style-type: none">⇒ De 7,2/1000 dias de internamento em 1975 para 9,8 em 1995, nos Estados Unidos⇒ Sépsis: 5% de todas as infeções em 1975; 14% em 1990-96 nos EUA⇒ Num estudo recentemente realizado na Europa, 53% dos médicos de medicina interna entrevistados declararam ter tratado no último mês pelo menos um doente com uma infeção totalmente ou quase totalmente resistente a antibióticos⇒ A frequência de microrganismos resistentes a antibióticos nas casas de saúde encontra-se em constante aumento, bem como a probabilidade de um residente transferido para o hospital ser colonizado ou infectado com microrganismos resistentes a fármacos
Fração elevada com prevenção possível	Mais de 1/3 das infeções podem ser prevenidas e esta percentagem é maior em contextos onde não são respeitadas as normas primárias de prestação de cuidados ou em locais de infeção específicos

A tendência epidemiológica das IAPC observada atribui-se a diversos fatores: um aumento da proporção de doentes imunodeprimidos ou frágeis, a complexidade acentuada da prestação de cuidados, o aumento das infeções decorrentes de microrganismos resistentes aos antibióticos (devido à pressão antibiótica e à transmissão dos microrganismos no contexto da prestação de cuidados) e a transferência frequente de doentes na rede de serviços.

Hoje em dia, as IAPC constituem um grande desafio para a saúde pública pois representam um conjunto bastante heterogéneo de condições diversas reunidas sob um perfil microbiológico, fisiológico e epidemiológico, condições estas que têm um elevado impacto para os custos com a saúde e são indicadores da qualidade dos serviços oferecidos aos doentes internados.

A incidência das IAPC varia de local para local e é influenciada pelo diagnóstico primário do doente, pelas patologias associadas e pela exposição a intervenções cirúrgicas e/ou diagnóstico-terapêuticas.

De um ponto de vista epidemiológico, as IAPC com maior prevalência correspondem às do trato urinário (em média 27% nas sondagens nacionais de prevalência), seguidas pelas infeções das vias respiratórias (24%), das infeções do local da cirurgia (17%), das bacteriemias (10%) e de outras infeções (incluindo infeções intestinais, maioritariamente causadas pela *Clostridium difficile*, caracterizada com a **ribotipagem** 027, infeções cutâneas e subcutâneas e infeções do sistema nervoso central).

Ribotipagem

Termo introduzido por Barbieri (1981) que corresponde a um sistema intermédio entre o genótipo e o fenótipo; tal conceito foi reutilizado por Herbert e Ritch (1999), os quais definiram a "ribotipagem" como "o conjunto da sequência de nucleótidos do RNA de um indivíduo", destacando a importância da sua função nos organismos eucariotas.

As infeções representam uma das principais causas de morte e são responsáveis por um considerável aumento dos custos dos serviços de saúde, pois obrigam a um prolongamento da duração de permanência hospitalar.

Segundo o relatório anual de 2008 do European Center for Diseases Control and Prevention (ECDC), diariamente, a prevalência no hospital de doentes que contraíram uma infeção corresponde a 7,1%, com uma variação de 3,5% a 10,5%, consoante os estudos.

O ECDC estima que, todos os anos, mais de 4 milhões de doentes na Comunidade Europeia de 27 países adquirem uma infeção no hospital, num total de 4,5 milhões de infeções anuais. Como consequência destas infeções, verificam-se aproximadamente 37.000 mortes diretamente relacionadas com a infeção e 110.000 mortes relativamente às quais a existência da infeção influenciou a evolução do diagnóstico.

Novamente segundo o ECDC, as infeções dão origem a cerca de 16 milhões de dias de permanência hospitalar adicionais por ano (uma média de 4 dias por infeção) e custos significativos para os serviços de saúde dos Estados-Membros. Assumindo um custo médio de 435 euros por dia, o custo total anual das infeções contraídas num hospital na Europa pode estimar-se em 7 biliões de euros ao ano, sem ter em consideração os custos indiretos resultantes da perda de rendimentos pelas faltas ao trabalho e uma eventual morte, bem como os custos intangíveis relacionados com o sofrimento físico e emocional associado. Os meios de diagnóstico disponíveis hoje em dia permitem obter diagnósticos em cerca de 90% dos casos. Tal percentagem é posteriormente aumentada pela monitorização e pela supervisão microbiológica. Contudo, o aspeto mais premente deste problema é, não obstante os indiscutíveis progressos da medicina, a incidência e a mortalidades das infeções hospitalares (4ª causa de morte no mundo ocidental) que não têm tendência a diminuir, embora se calcule que 30% das mesmas poderiam ser prevenidas (135.000- 210.000 de infeções que poderiam ser prevenidas em Itália).

3.2 Transmissão de infeções associada à prestação de cuidados

Todas as estruturas sanitárias (hospitais, clínicas, ambulatórios, consultórios de dentistas, etc.), estão sujeitos a um risco de infeção decorrente da presença de organismos patogénicos que podem representar uma ameaça tanto para os doentes como para os profissionais de saúde.

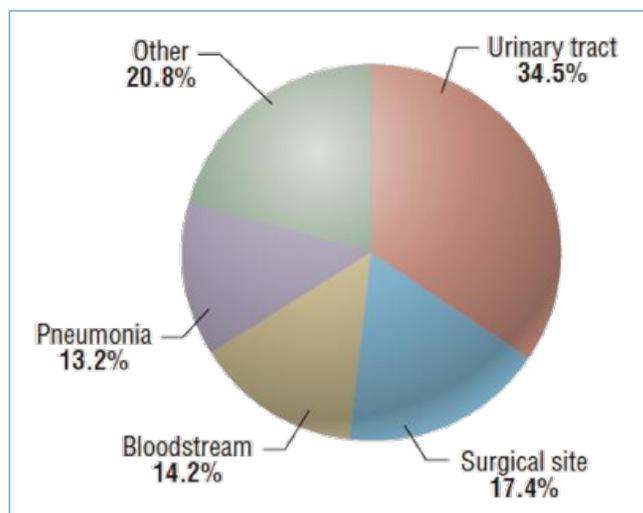
As infeções relacionadas com a prestação de cuidados podem ser de dois tipos: **endógenas** e **exógenas**, consoante o microrganismo responsável seja proveniente do próprio doente ou de outros agentes infecciosos (profissionais de saúde, outros doentes, ambiente). As infeções endógenas, ou autoinfeções, são originárias da penetração em locais estéreis de bactérias normalmente residentes nas superfícies das mucosas; nas autoinfeções podem ainda ser incluídos os **processos de supuração** causados por bactérias residentes na pele do próprio doente. Todos estes microrganismos podem alcançar a circulação sanguínea, os tecidos profundos e as cavidades naturalmente estéreis na sequência de intervenções (por ex. cateterismo vesicular, broncoscopia), devido à diminuição da capacidade de defesa a nível local e geral devido a queimaduras, etc.

Processo de supuração

Processo patológico que consiste na formação de pus dentro do tecido inflamado.

A variedade de espécie e do número de unidade de microrganismos veiculados pelas mãos variam de indivíduo para indivíduo, consoante a situação, mas dependem essencialmente dos hábitos de higiene pessoal. A seguir às mãos enquanto veículos de infeções exógenas encontram-se: o vestuário dos profissionais de saúde, os instrumentos médicos, os artigos utilizados e as superfícies com as quais o doente entra em contacto.

O papel de cada um destes fatores é diferente e pode ter maior ou menor importância, consoante a doença, as intervenções a que o doente é submetido e o ambiente onde ocorrem.



Entre os elementos ambientais mais frequentemente apontados como suspeitos da transmissão de infeções relacionadas com a prestação de cuidados, encontram-se o ar, a água e as superfícies (pisos, paredes e outras superfícies). As infeções exógenas, por sua vez, partem de um depósito de microrganismos no hospital e são responsáveis por 10-20% dos casos de infeções nosocomiais (40% nas UCI - Unidades de Cuidados Intensivos). As infeções relacionadas com a prestação de cuidados, entre as quais as adquiridas em contexto hospitalar (Figura 1), ou nosocomiais, constituem um problema persistente que, por vezes, pode levar a desfechos trágicos. Os principais pontos de partida são:

Figura 1 – Tipos de infeções nosocomiais (CDC, 1996).

locais húmidos e de difícil limpeza, equipamento e partes de equipamento dificilmente esterilizáveis.

3.3 Vias de transmissão

A origem da transmissão das IAPC do tipo exógeno atribuíveis a microrganismos provenientes do meio exterior através da transmissão:

- por parte de doentes portadores colonizados que são admitidos nas alas hospitalares, não submetidos a medidas de supervisão, de isolamento e de erradicação do(s) germe(s);
- de doentes que desenvolveram a infeção e para a qual não foram estabelecidas medidas de isolamento de distância ou de contacto;
- do contacto com superfícies e objetos através das mãos;
- no decorrer de procedimentos invasivos, no momento de introdução e manutenção de um dispositivo.

Na Figura 2 é possível observar um fluxograma que descreve as principais vias de transmissão de agentes patogénicos.

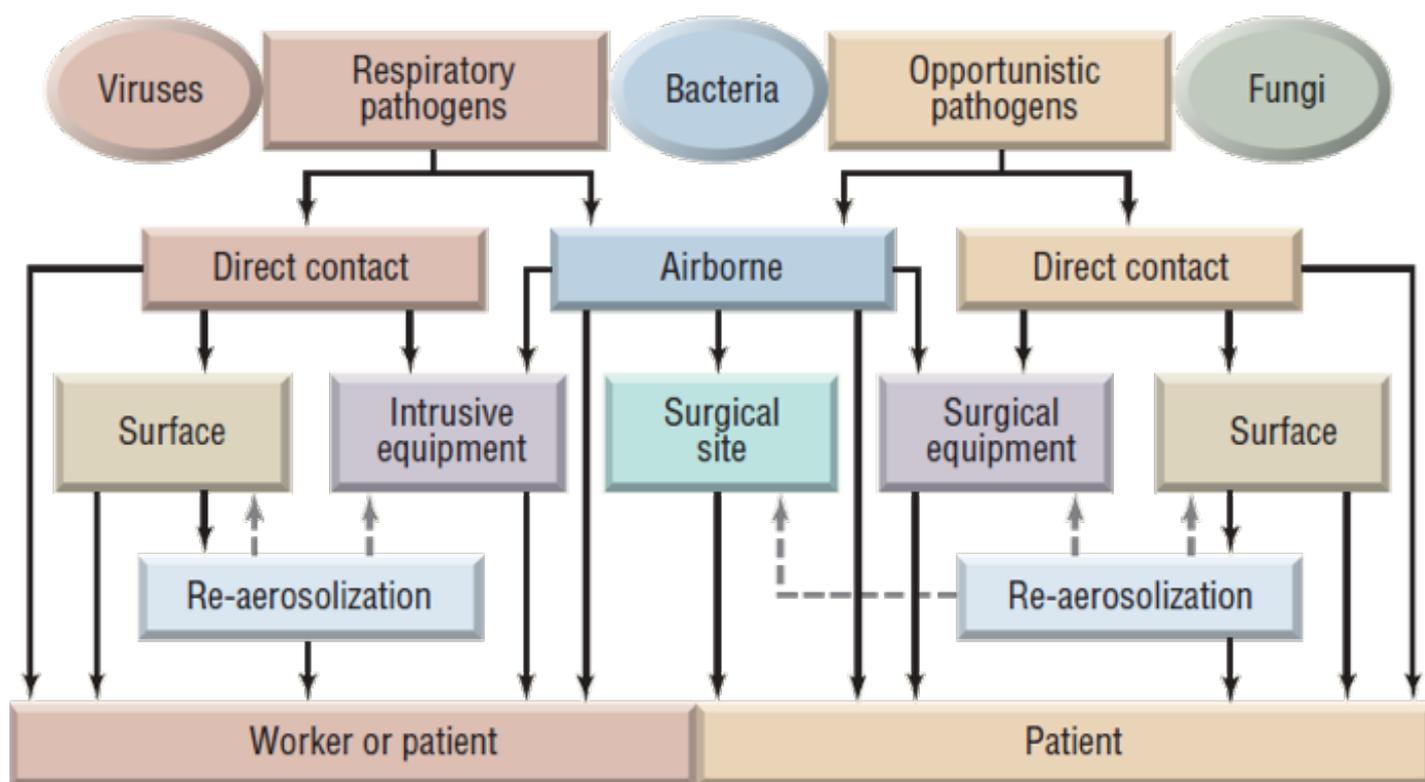


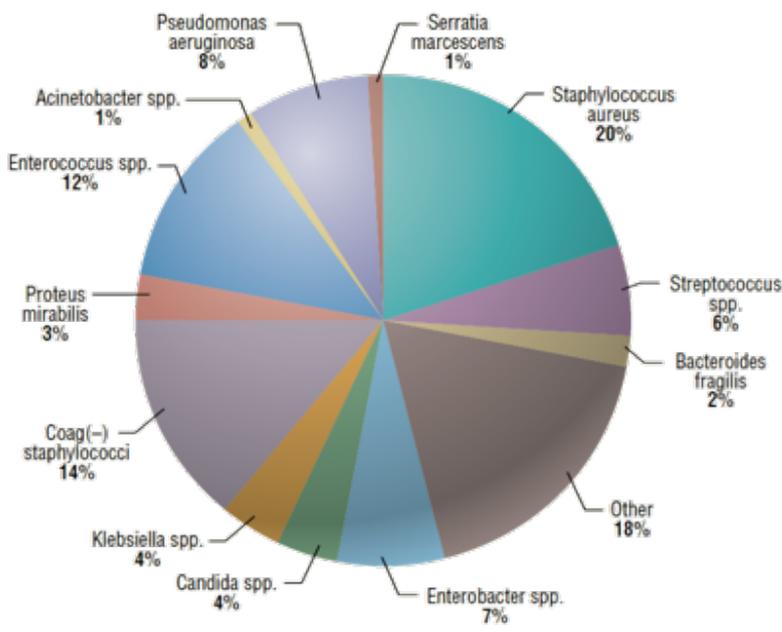
Figura 2 – As principais vias de transmissão de agentes patogénicos nosocomiais podem ser complexas e ter múltiplos fatores (Kowalski, 2006)

Só são apresentados os trajetos de primeira e segunda ordem, embora seja possível que um microrganismo faça parte de aerossóis ou que seja transmitido de pessoa para pessoa mais vezes antes de causar uma infeção. Não foram indicados todos os trajetos possíveis nem todos os trajetos apresentados são prováveis: contudo, a Figura 2 ilustra a potencial complexidade das etiologias das infeções nosocomiais.

Os microrganismos dispersos no ar que se depositam nas superfícies ou na pele são denominados **fómites**. Estes fómites podem ser gotículas ou núcleos de gotículas secas que contêm um ou mais microrganismos patogénicos. Quer seja através do contacto das mãos com os fómites presentes na superfície ou através da re-formação de aerossóis devido a perturbações (e posterior inalação), são considerados percussores significativos da transmissão de doenças infecciosas.

Qualquer **agente patogénico disperso no ar** pode dar origem a uma infeção nosocomial.

A maior parte dos agentes patogénicos oportunistas que causam infeções no local da cirurgia (**Surgical Site Infections, SSIs**) encontram-se, pelo menos em parte, dispersos no ar.



Alguns esporos de bolores ambientais, nomeadamente o *Aspergillus*, podem causar infeções oportunistas em indivíduos imunodeprimidos. A Figura 3 mostra as espécies de agentes patogénicos responsáveis por infeções nosocomiais: quase todos se encontram potencialmente dispersos no ar, embora a maior parte das infeções tenha uma maior probabilidade de se originar através do contacto direto e com o equipamento.

Figura 3 - Principais causas das infeções nosocomiais (Mangram & al., 1999).

A Figura 4 mostra as principais bactérias e vírus nosocomiais ordenados graficamente por incidência e proporção relativas dos respetivos diâmetros médios numa escala logarítmica. Classificar estes agentes patogénicos em termos de vítimas ou de custos é muito mais complexo e pode dar origem a hierarquias bastante diferentes.

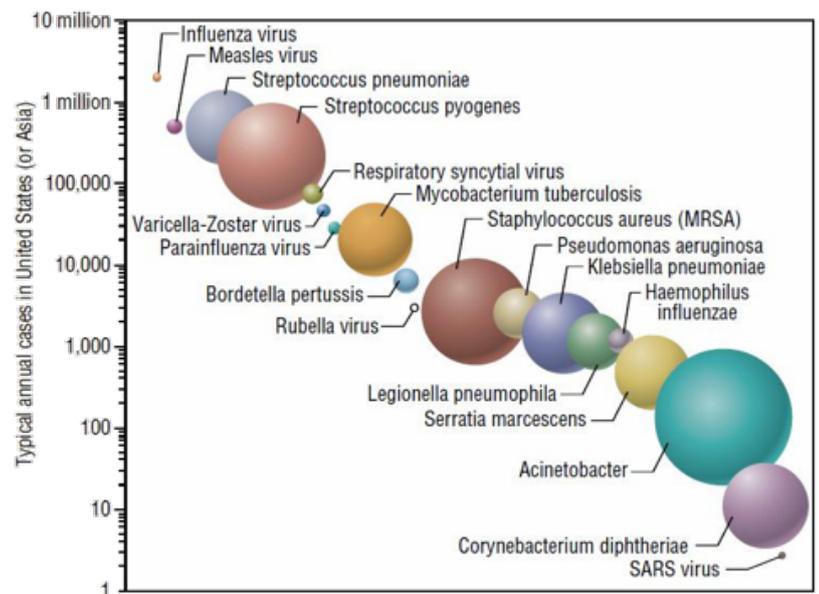


Figura 4 - Principais agentes patogénicos nosocomiais. As esferas representam a dimensão relativa dos microrganismos (Kowalski, 2006).

O **bioaerossol** libertado por uma pessoa tende a permanecer em suspensão em redor da mesma antes de se precipitar e depositar-se numa superfície onde pode crescer e, devido a perturbações, readquirir a forma de bioaerossol (Sherertz, & al., 2001). A Figura 5 ilustra as possíveis fontes: estas flutuações podem explicar a forma como os agentes patogénicos conseguem alcançar a ferida aberta de um doente submetido a cirurgia. De forma análoga, o processo ocorre quando uma pessoa fala, espirra ou tosse.

Bioaerossol

Um bioaerossol, (abreviatura de aerossol biológico) é uma suspensão de partículas no ar contendo organismos vivos. Estas partículas são muito pequenas e têm dimensões que variam entre menos de 1µm a 100 µm.

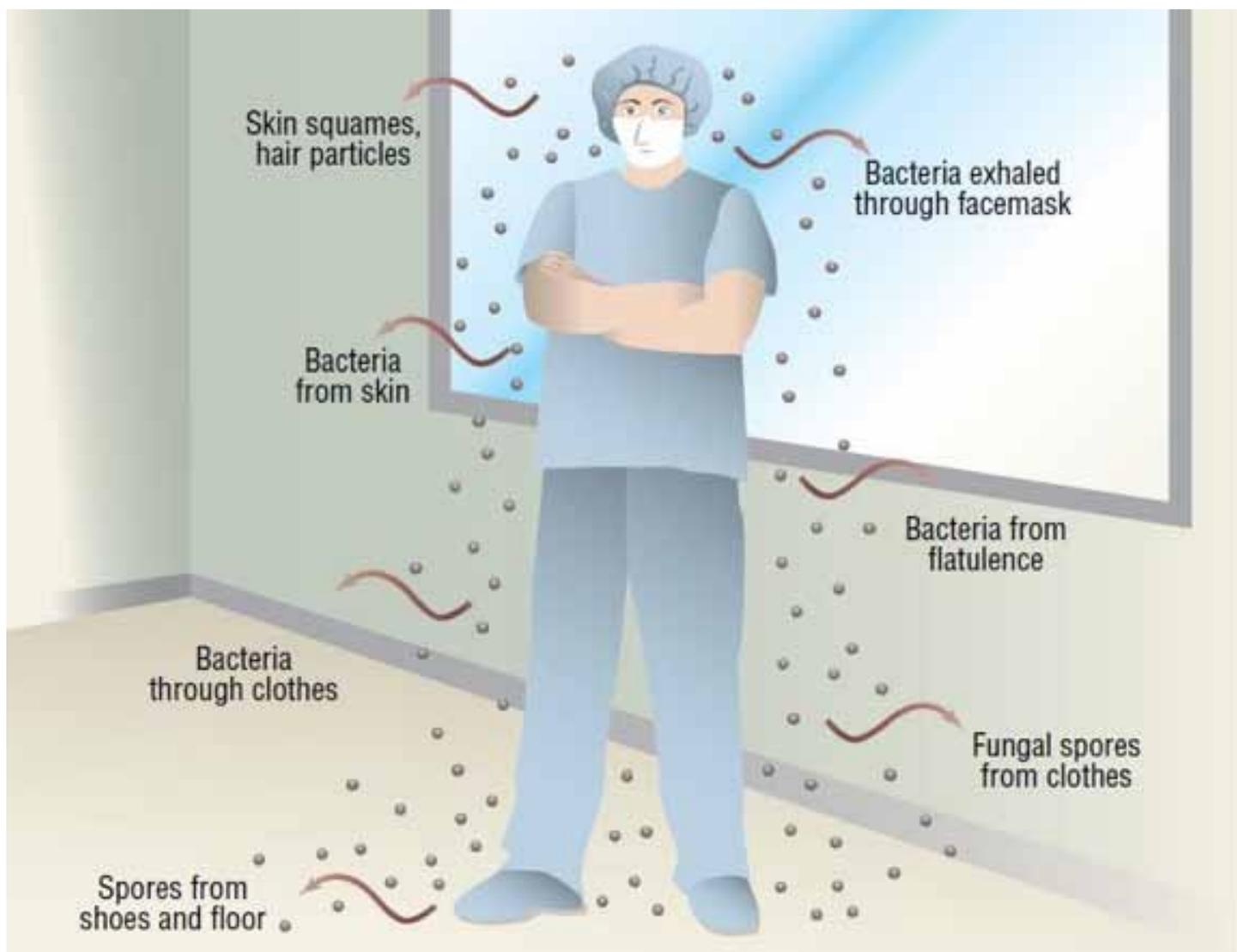


Figura 5 – Diferentes bioaerossóis produzidos em parte pelos laboratórios hospitalares.

Os microrganismos contidos nos bioaerossóis tendem, com o tempo, a depositar-se por ação da gravidade: quanto mais pequeno for o microrganismo, maior é a probabilidade de permanecer no ar. A este fator importante associa-se um outro, também importante, que é o tempo de infecciosidade no ar. Os microrganismos que se encontram na forma de bioaerossol tendem a morrer no ar, seja pela ação de fatores ambientais ou pela ausência de nutrientes nos bioaerossóis. Por vezes, este efeito é designado fator do ar livre (**Open Air Factor, OAF**) (Cox & Baldwin, 1967) (Cox, 1995),

Diversos estudos demonstraram que as várias bactérias patogénicas podem ser transferidas pelas mãos dos profissionais de saúde através do contacto com superfícies ambientais, na ausência de contacto direto com os doentes (Tabela 2).

Simultaneamente, outros estudos documentaram a forma como os agentes patogénicos são transportados pelas pessoas e são introduzidos no ambiente – onde podem sobreviver nas superfícies por longos períodos de tempo, espalhando-se entre as pessoas e o ambiente – e como uma melhor higienização reduz as taxas de infeção devidas a estes agentes patogénicos (Tabela 3).

Tabela 2 - Transferência através das mãos de agentes e marcadores (substitutos) patogênicos presentes nas superfícies

Referência	Âmbito, Local	Organismo(s)	Método	Nº	N contaminados (%)	Comentário
(Rusin & al., 2002)	Laboratório, EUA	Bactérias e fagos	Fómites contaminados para fins experimentais com uma mistura de bactérias e fagos, tocados por voluntários	10-20	...	Eficácia de transferência maior para não fómites porosos (28% -66%); bactérias Gram positivas tiveram a eficácia mais elevada de (41%)
(Jiang & al., 1998)	Centro de tratamento para crianças, EUA	Vírus (substituto)	O DNA foi colocado nos brinquedos e, de seguida, estes foram dados a segurar aos investigadores	5	5 (100)	Posterior transferência de DNA para brinquedos limpos em 3 de 5 ocasiões
(Rheinbaben & al., 2000)	Laboratório, Alemanha	Fago	Voluntários colocados em contacto com um puxador contaminado para fins experimentais	14	14 (100)	Nas mãos dos voluntários, o vírus inoculado teve uma recuperação de 30% - 66%
Environmental contamination due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus: possible infection control implications.,	Quartos de hospital EUA	MRSA	Foram detetadas culturas nas mãos após a visita de rotina do doente sem contacto direto com o doente	12	5 (42)	Os 12 investigadores envergavam luvas
(Ray & al., 2002)	Quartos de hospital EUA	VRE	Foram detetadas culturas nas mãos após 5 segundos de contacto com a barreira da cama e a mesinha de cabeceira no quarto dos doentes com VRE	13	6 (46)	5 das 6 culturas nas mãos eram indistinguíveis das ambientais colocadas por PFGE
(Barker & al., 2004)	Laboratório, Reino Unido	Norovirus	Tocar com os dedos limpos em superfícies contaminadas e, sucessivamente, noutros objetos	30	12 (40)	Puxador das portas (4 em 10), telefones (5 em 10) e torneiras (3 em 10) contaminados
(Bhalla & al., 2004)	8 alas, EUA	Ag. patogén.	Foram detetadas culturas nas mãos após 5 seg. de contacto com a barreira da cama e da mesinha de cabeceira	64	34 (53)	Resultados positivos para culturas nas mãos em 24% de 25 quartos que tinham sido limpos após a saída do doente
contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant enterococcus or the	UCI, EUA	VRE	Foram detetadas culturas nas mãos de 44 profissionais de saúde, os quais apresentaram resultados negativos para culturas nas mãos no início do estudo e durante o tratamento de rotina tocaram apenas em superfícies ambientais	44	23 (52)	Cada contacto com o doente ou superfícies ambientais representa um risco de 10% de contrair VRE

LEGENDA: UCI, Unidade de Cuidados Intensivos; MRSA, methicillin-resistant Staphylococcus aureus; PFGE, pulsed-field gel electrophoresis; VRE vancomycin-resistant enterococci.

Tabela 3 – Estudos sobre o papel desempenhado pelas superfícies contaminadas na transmissão endêmica de ag. patogénicos nosocomiais

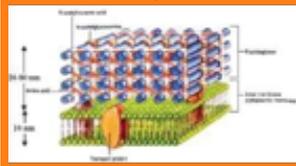
Referência	Âmbito, Local	Organismo(s)	Método do estudo	Principais resultados
(Samore & al., 1996)	Nas escadas do hospital, EUA	C. difficile	6 meses de estudo prospetivo observacional	Frequência de transmissão relacionada com a intensidade da contaminação ambiental
(Mayfield & al., 2000)	3 unidades, EUA	C. difficile	18 meses de estudo prospetivo antes e depois da passagem da desinfecção com QAC e com lixívia	Redução significativa da incidência de CDI na unidade de risco mais elevado (de 8,6 para 3,3 de casos a cada 1.000 doentes/dias)
(Wilcox & al., 2003)	2 unidades, EUA	C. difficile	2 anos de estudo prospetivo cruzado de alas passando de uma desinfetada com detergente para outra com lixívia	Redução significativa da incidência de CDI numa das unidades (de 8,9 para 5,3 de casos a cada 100 admissões), mas não na outra
(Boyce & al., 2008)	Nas escadas do hospital, EUA	C. difficile	20 meses de estudo prospetivo antes e depois da utilização de rotina da descontaminação com HPV	Redução significativa da incidência de CDI em 5 unidades com alta incidência (de 2,3 a 1,3 casos a cada 1.000 doent./dias); redução da incidência de CDI inferior em todo o hospital
(Manian & al., 2010)	Nas escadas do hospital, EUA	C. difficile /VRE	24 meses de estudo prospetivo antes e depois da utilização de rotina da descontaminação com HPV	Redução significativa da C. difficile (de 1,0 a 0,5 casos a cada 1.000 doent./dias) e VRE (de 0,3 a 0,15 casos por 1.000 doent./ dias); reduções substanciais mas não estatist. significativas em MRSA e Acinetobacter
(Bonten & al., 1996)	UCI, EUA	VRE	2 meses de estudo prospetivo observacional	23% de 13 doentes internados no quarto contaminados com VRE adquiriram VRE
(Hayden & al., 2006)	UCI, EUA	VRE	9 meses de estudo prospetivo antes e depois de uma melhor educação sobre limpeza e higiene das mãos	Redução da frequência de contaminação ambiental; a aquisição de VRE por parte do doente foi reduzida em 33 de 17 contrações por 1.000 doentes/dias durante a fase de melhor limpeza
(Passaretti & al., 2008)	UCI, EUA	VRE	12 meses de estudo prospetivo de coorte para avaliar efeito descontaminante de HPV	HPV foi uma proteção contra a transmissão de VRE quando o doente que ocupava anteriormente o quarto tinha VRE (IRR para doentes internados em quartos descontaminados com HPV face aos métodos padrão, 0,22)
(Hardy & al., 2006)	UCI, Reino Unido	MRSA	14 meses de estudo prospetivo observacional	Mais de 10% das transmissões podem decorrer diretamente do ambiente
(Mahamat & al., 2007)	Escadas do hospital, Reino Unido	MRSA	8 anos de análise prospetiva de séries temporais interrom. por várias intervenções de controlo de infeções	A introdução da desinfecção com lixívia, as amostragens ambientais, o gel à base de álcool e o rastreio de admissões reduziram todos a prevalência de MRSA
(Dancer & al., 2009)	2 alas, Reino Unido	MRSA	Estudo prospetivo cruzado de 12 meses sobre o efeito de 1 detergente suplementar	A limpeza avançada foi associada às reduções significativas dos contaminantes da superfície, dos insucessos, das Operações de higiene e de transmissão de MRSA

LEGENDA difficile infection; HPV, hydrogen peroxide vapor; UTI, Unidade de Cuidados Intensivos; IRR, incidence rate ratio; MRSA, methicillin-resistant Staphylococcus aureus; QAC, quarternary ammonium compound; VRE, vancomycin-resistant enterococci.: CDI, Clostridium

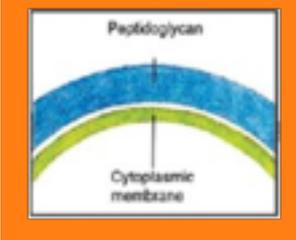
3.4 Sobrevivência dos microrganismos nas superfícies

Gram-positivas

Definem-se como Gram-positivas [Gram (+)] as bactérias que permanecem com cor azul ou roxa depois de serem submetidas à coloração de Gram.



As bactérias Gram positivas (+) apresentam uma membrana celular fosfolípica rodeada por uma parede celular constituída maioritariamente por peptidoglicano, o qual confere à célula, entre outras características, a rigidez e a resistência à desagregação mecânica



Independentemente das opiniões divergentes em matéria de tratamento de desinfeção mais apropriado, um parâmetro importante para uma correta avaliação científica corresponde à persistência do ag. patogénico nosocomial sobre a superfície. Quanto mais um ag. patogénico persistir sobre uma superfície, mais pode constituir uma fonte de transmissão, e desta forma comprometer um doente suscetível ou um profissional de saúde.

A maior parte das bactérias **Gram-positivas**, como a *Enterococcus spp.* (incluindo a VRE), a *Staphylococcus aureus* (MRSA incluída), a *Streptococcus pyogenes*, sobrevivem durante meses em superfícies secas (Tabela 4). Em geral, não existe qualquer diferença evidente entre a sobrevivência das estirpes multirresistentes e suscetíveis de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus spp.* (Neely & al., 2000).

Tabela 4 - Persistência das bactérias clinicamente relevantes em superfícies secas e inanimadas (Kramer & al., 2006).

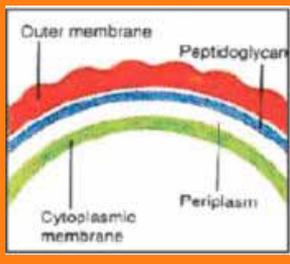
Tipo de bactéria	Duração da persistência (range)
<i>Acinetobacter spp.</i>	3 dias ÷ 5 meses
<i>Bordetella pertussis</i>	3 ÷ 5 dias
<i>Campylobacter jejuni</i>	Até 6 dias
<i>Clostridium difficile</i> (esporos)	5 meses
<i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>C. trachomatis</i>	≤ 30 horas
<i>Chlamydia psittaci</i>	15 dias
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	7 dias ÷ 6 meses
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	1 ÷ 8 dias
<i>Escherichia coli</i>	1,5 h ÷ 16 meses
<i>Enterococcus spp.</i> incluindo VRE e VSE	5 dias ÷ 4 meses
<i>Haemophilus influenza</i>	12 dias
<i>Helicobacter pylori</i>	≤ 90 minutos
<i>Klebsiella spp.</i>	2 h ÷ > 30 meses
<i>Listeria spp.</i>	1 dia ÷ meses
<i>Mycobacterium bovis</i>	>2 meses
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 dia ÷ 4 meses
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 ÷ 3 dias
<i>Proteus vulgaris</i>	1 ÷ 2 dias
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 h ÷ 16 meses (no piso seco 5 semanas)
<i>Salmonella typhi</i>	6 h ÷ 4 semanas
<i>Salmonella typhimurium</i>	10 dias ÷ 4,2 anos
<i>Salmonella spp.</i>	1 dia
<i>Serratia marcescens</i>	3 dias ÷ 6 meses (no piso seco 5 semanas)
<i>Shigella spp.</i>	2 dias ÷ 5 meses
<i>Staphylococcus aureus</i> , incluso MRSA	7 dias ÷ 7 meses
<i>Streptococcus pneumonia</i>	1 ÷ 20 dias
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 dias ÷ 6,5 meses
<i>Vibrio cholerae</i>	1 ÷ 7 dias

Gram-negativas

Definem-se como Gram negativas [Gram (-)] as bactérias que permanecem com a cor rosa após terem sido submetidas à coloração de Gram.



As bactérias Gram (-) têm uma parede celular de espessura menor relativamente às Gram (+) e apresentam uma segunda membrana externa. Uma das características principais de tais bactérias é a presença, na camada externa da membrana, de lipossacarídeos (LPS), endotoxinas capazes de desencadear uma resposta imunitária no hospedeiro.



Muitas espécies de bactérias **Gram-negativas**, como a *Acinetobacter spp.*, a *Escherichia coli*, a *Klebsiella spp.*, a *Pseudomonas aeruginosa*, a *Serratia marcescens* ou a *Shigella spp.* podem sobreviver em superfícies inanimadas durante meses. Estas espécies encontram-se entre as que são isoladas com maior frequência em doentes com infeções nosocomiais (Rüden & al., 1997). Contudo, algumas outras, como a *Bordetella pertussis*, a *Haemophilus influenzae*, a *Proteus vulgaris* ou a *Vibrio cholerae*, persistem apenas durante dias. As microbactérias – entre as quais a *Mycobacterium tuberculosis* e as bactérias esporuladas, incluindo a *Clostridium difficile* – podem sobreviver durante meses nas superfícies.

A *Candida albicans*, o mais importante agente patogénico fúngico nosocomial, pode sobreviver até 4 meses nas superfícies (Tabela 5). Outras leveduras demonstraram uma persistência similar (*Torulopsis glabrata*, 5 meses) ou (*Candida parapsilosis*, 14 dias).

Tabela 5 - Persistência de fungos clinicamente relevantes em superfícies secas e inanimadas (Kramer & al., 2006).

Tipo de fungo	Duração da persistência (range)
<i>Candida albicans</i>	1 ÷ 120 dias
<i>Candida parapsilosis</i>	14 dias
<i>Torulopsis glabrata</i>	102 ÷ 150 dias

Entre as causas de uma maior persistência encontram-se a presença de soro ou albumina, temperaturas baixas e uma percentagem de humidade elevada (Blaschke-Hellmessen & al., 1985).

A maior parte dos vírus das vias respiratórias, como o *Coronavirus*, o *Coxsackievirus*, o *Influenzavirus*, o *SARS* e o *Rinovirus*, podem persistir nas superfícies durante dois ou três dias. Os vírus do trato gastrointestinal, como o *Astrovirus*, o *HAV*, o *Poliovirus* e o *Rotavirus* persistem durante cerca de 2 meses. Os vírus de origem hemática, nomeadamente o *HBV* e o *HIV*, podem persistir por mais de uma semana. Os vírus Herpes como o *CMV* ou o *HSV* tipo 1 e 2 demonstraram poder persistir entre poucas horas até 7 dias (Tabela 6).

As mãos, ao entrarem em contacto com superfícies contaminadas de agentes patogénicos nosocomiais, podem tornar-se vetores de transmissão cruzada (Bures & al., 2000) (Catalano & al., 1999) (Boyce & al., 1997). Um único contacto de uma mão com uma superfície contaminada dá lugar à transferência de agentes patogénicos de grau variável: esta transmissão é mais eficaz com o *Escherichia coli*, o *Salmonella spp.*, o *Staphylococcus aureus* (todos de 100%) (Scott & Bloomfield, 1990), a *Candida albicans* (90%) (Rangel-Frausto & al., 1994), o *Rinovirus* (61%) (Gwaltney & Hendley, 1982), o *HAV* (22% - 33%) (Mbithi & al., 1992) e o *Rotavirus* (16%) (Ward & al., 1991) (Ansari & al., 1988). As mãos contaminadas por vírus podem transferir os mesmos a mais de 5 superfícies (Barker & al., 2004) ou a 14 indivíduos (von Rheinbaben & al., 2000), e podem ser fonte de recontaminação das superfícies, como foi demonstrado pelo *HAV* (Mbithi & al., 1992) (Barker & al., 2004).

Em suma, é muito importante sublinhar o modo como, durante as epidemias, o ambiente pode desempenhar um papel de relevo na transmissão de agentes patogénicos nosocomiais, conforme o sugerido pelos resultados experimentais.

Este fenómeno foi descrito para os vários tipos de microrganismos, como a *Acinetobacter baumannii* (Fierobe & al., 2001) (Lemmen & al., 2004) (Ling & al., 2001), a *Clostridium difficile* (Hanna & al., 2000) (Verity & al., 2001) (Kaatz & al., 1988) e o *MRSA* (Lemmen & al., 2004) (Fitzpatrick & al., 2000), a *Pseudomonas aeruginosa* (Engelhart & al., 2002) (Lemmen & al., 2004), a *VRE* (Duckro & al., 2005) (Martinez & al., 2003), *SARS* (Mukhopadhyay & al., 2004) (Chen & al., 2004), o *Rotavirus* (Butz & al., 1993) (Wilde & al., 1992) e o *Norovirus* (Chadwick & al., 2000).

Tabela 6 - Persistência de vírus clinicamente relevantes em superfícies secas e inanimadas (Kramer & al., 2006).

Tipo di vírus	Duração da persistência (range)
Adenovirus	7 dias ÷ 3 meses
Astrovirus	7 ÷ 90 dias
Coronavirus	3 horas
SARS associated virus	72 ÷ 96 horas
Coxsackie virus	> 2 semanas
Citomegalovirus	8 horas
Echovirus	7 dias
HAV	2 horas ÷ 60 dias
HBV	> 1 semana
HIV	> 7 dias
Herpes simplex virus, type 1 and 2	4,5 h ÷ 8 semanas
Influenza virus	1 ÷ 2 dias
Norovirus and feline calici virus (FCV)	8 horas ÷ 7 dias
Papillomavirus 16	> 7 dias
Papovavirus	8 dias
Parvovirus	> 1 ano
Poliovirus type 1	4 horas ÷ < 8 dias
Poliovirus type 2	1 dias ÷ 8 semanas
Pseudorabies virus	≥ 7 dias
Respiratory syncytial virus	Até 6 horas
Rhinovirus	2 horas ÷ 7 dias
Rotavirus	6 ÷ 60 dias
Vacciniavirus	3 ÷ > 20 semanas

4 Intervenções no ambiente

As infeções relacionadas com a prestação de cuidados constituem um problema de relevo em termos sociais, económicos e de saúde.

Caiu por terra a ilusão de que a disponibilidade de novos antibióticos possa resolver todos os tipos de infeção. Pelo contrário, a ampla utilização de antibióticos nos últimos anos deu origem à seleção de estirpes multirresistentes.

Consolidou-se a convicção da necessidade de enfrentar a nível mundial o problema com uma estratégia abrangente, que reconheça nos procedimentos de limpeza e desinfeção (ou no sanitização), um instrumento fundamental de profilaxia das doenças infecciosas.

4.1 Sanitização

A sanitização é um processo que elimina uma grande quantidade de materiais que não fazem parte de um elemento, incluindo as poeiras, um grande número de microrganismos e a matéria orgânica que os protege. Por sanitização entende-se a atuação simultânea, ou melhor, os dois momentos distintos da limpeza e da desinfeção de qualquer superfície.

4.2 Limpeza

O termo limpeza refere-se à remoção da sujidade visível das superfícies. Uma vez que a sujidade é composta por uma mistura de poeiras, lípidos, germes e outras matérias orgânicas (com a possível existência de pus, sangue e outros líquidos biológicos), a limpeza requer a utilização de sabões, detergentes (ou de produtos de ação enzimática) assegurando, sempre que corretamente realizada, uma redução superior a 90% da flora microbica. A limpeza é por isso:

- um processo obrigatório e fundamental para reduzir a flora microbica existente;
- realizada com a utilização de produtos específicos;
- precedida por outros tipos de tratamento, uma vez que foi demonstrada a capacidade do soro, do sangue e de outros produtos biológicos de anular a ação de alguns desinfetantes e reduzir a ação de proteção que a sujidade garante, impedindo o contacto do desinfetante com os microrganismos.

4.3 Desinfeção

Por desinfeção entende-se o processo de destruir os microrganismos patogénicos ou potencialmente patogénicos presentes ou que se presume possam estar presentes num determinado espaço ou subcamada. Contudo, esta não inclui a destruição de todos os micróbios como é o caso da esterilização, mas apenas dos que possam causar problemas na situação em questão. Na prática, uma desinfeção é aceitável quando permite obter uma redução marcada da carga microbica. A desinfeção é levada a cabo a temperaturas inferiores a 100°C (pasteurização), técnica preferível por motivos de eficácia e do seu custo, ou com a utilização de substâncias químicas quando o primeiro método não é praticável devido às características dos materiais.

Existem muitos elementos que podem condicionar este processo. Alguns são fatores intrínsecos aos microrganismos, os quais demonstram uma resistência crescente aos desinfetantes, segundo a ordem bactérias > vírus lipofílicos > fungos > vírus hidrofílicos > microbactérias > endósporos.



Em muitos dos casos, a resistência está relacionada a fatores estruturais do germe ou à exposição aos germicidas, que pode induzir a seleção de estirpes mais resistentes: a reversibilidade do fenómeno é documentada, sendo objeto de estudo a possível interação entre a resistência aos antibióticos e a resistência aos germicidas. Outros fatores que dizem respeito ao PH das soluções, à temperatura, à concentração dos produtos, ao tempo de exposição, à presença de substâncias orgânicas, à conformação do objeto, bem como ao nível de limpeza do substrato (em particular de substâncias como o pus ou o sangue) são essenciais. É necessário saber quais as misturas desaconselháveis de desinfetantes e que a possibilidade de a sua ação ser neutralizada varia grandemente de molécula para molécula; segundo este ponto de vista, os álcoois apresentam uma resistência ótima.

A desinfeção divide-se comumente em 3 níveis:

- alto
- médio
- baixo

O **nível alto** tem como objetivo eliminar todos os microrganismos, à exceção dos esporos das bactérias.

O **nível médio** ou intermédio visa destruir a maior parte das bactérias e dos fungos, da *Mycobacterium tuberculosis* mas não dos esporos de bactérias.

O **nível baixo** atua sobre alguns fungos, vírus e bactérias, mas não sobre o *Mycobacterium tuberculosis* e os esporos.

É costume distinguir, consoante a finalidade, a desinfeção contínua da terminal e da ocasional.

A **desinfeção contínua** é efetuada no doente acamado e está estreitamente relacionada com alguns aspetos epidemiológicos da doença em causa, sobretudo dos relativos às vias de eliminação e de penetração do agente patogénico.

A **desinfeção terminal** tem como objetivo a sanitização do espaço ocupado pelo doente infectado, após o tratamento, a transferência ou a morte; Intervenções em ambientes

é necessário, em tais casos, proceder não só à desinfeção do local ou locais, mas também à dos artigos de cama (lençóis, colchões) e aos utilizados pelo doente, efetuada no local por pessoal qualificado ou em estações para o efeito.

A **desinfeção ocasional** ou periódica é praticada a intervalos reguladores de tempo ou sempre que houver necessidade, em locais públicos, salas de cinema, aulas e meios de transporte públicos.

4.4 Os desinfetantes

Os desinfetantes (Tabela 7) são amplamente utilizados no âmbito hospitalar e sanitário como instrumentos de controlo e prevenção das infeções; do ponto de vista da regulamentação, são considerados provisões médico-cirúrgicas, os que são preparados com vista a preservar a saúde e a segurança. Por este motivo, a comercialização é permitida mediante prescrição prévia do Ministério da Saúde, obtida depois do produto ter sido aprovado em verificações de eficácia, de toxicidade, de estabilidade química, etc. Por este motivo, as informações fornecidas pelo fabricante ao utilizador devem ser autorizadas pelo Ministério.

O desinfetante reduz a quantidade de microrganismos, mas nem sempre é eficaz contra os esporos; o efeito é sempre condicionado pelo facto de que a sua utilização é precedida de uma limpeza a fundo.

O princípio fundamental para a utilização correta e racional de antissépticos e desinfetantes é que não existe um desinfetante válido para todas as ocasiões: a sua seleção está sempre dependente da utilização para a qual é indicado. Convém recordar que a eficácia do antisséptico e do desinfetante depende de numerosos fatores que dizem respeito ao local, ao próprio dispositivo, ao material a tratar e à população micróbica em questão.

- O DESINFECTANTE IDEAL**
- ▲ AÇÃO RÁPIDA E PERSISTENTE
 - ▲ ATIVIDADE BIOCIDA
 - ▲ AMPLO ESPECTRO DE AÇÃO
 - ▼ DE UTILIZAÇÃO NÃO DANOSA
 - ▲ FACILIDADE DE APLICAÇÃO
 - ▲ RESPEITA QUALIDADE E SEGURANÇA
 - ▲ ECONOMIA DE GESTÃO
 - ▲ BOA ESTABILIDADE QUÍMICA
 - ▲ ELEVADO PODER DE PENETRAÇÃO
 - ▼ NÃO INDUZ RESISTÊNCIAS

Tabela 7 – Espectro de ação de antissépticos e desinfetantes

Em condições de uso como desinfetante

Como esporicidas

	Vírus com capsídeo	Gram (+)	Gram (-)	Fungos	Vírus sem capsídeo	Microbactérias	Esporos
ÁLCOOL ETÍLICO	Boa	Boa	Boa	Variável	Variável	Variável	Insuficiente
ÁLCOOL ISOPROPÍLICO	Boa	Boa	Boa	Variável	Insuficiente	Variável	Insuficiente
GLUTARALDEÍDO	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Variável	Boa
CLOREXIDINA SOL. ALC.	Boa	Boa	Boa	Variável	Variável	Variável	Insuficiente
CLOREXIDINA SOL. AQ.	Boa	Boa	Insuficiente	Variável	Insuficiente	Insuficiente	Insuficiente
IPOCLORITO	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Variável	Boa
POVIDONA DE IODO (IODOFORL)	Boa	Boa	Boa	Boa	Boa	Variável	Variável
COMP. AMÓNIO QUAT.	Boa	Boa	Insuficiente	Insuficiente	Insuficiente	Insuficiente	Insuficiente

* aumentando o tempo de contacto

LEGENDA: ■ = Boa ■ = Variável ■ = Insuficiente

Os desinfetantes:

- devem ser utilizados segundo a concentração indicada nas instruções de utilização;
- necessitam de um determinado tempo de contacto para agirem com eficácia.

Algumas estirpes de bactérias e de vírus podem ser sensíveis a um tipo de antisséptico ou de desinfetante enquanto outras não o são. A maior parte dos desinfetantes pode ser neutralizado, em percentagens variáveis, na presença de matéria orgânica; é de extrema importância seleccionar o desinfetante em função da utilização e da limpeza antes da desinfeção específica.

A limpeza é fundamental para reduzir a carga bacteriana inicial; o desinfetante não é eficaz quando é utilizado em objetos que não foram limpos de forma eficaz.

As soluções desinfetantes podem encontrar-se contaminadas por microrganismos não incluídos no espectro de atividade do produto. O problema da contaminação reside sobretudo nas soluções aquosas de desinfetantes com baixo nível de eficácia que deveriam ser utilizados 7 a 10 dias após a diluição ou abertura do recipiente. Todos os desinfetantes utilizados de forma imprópria, além de perderem a eficácia, podem ter efeitos tóxicos e nocivos para os doentes e os profissionais de saúde.

5 Desinfecção fotocatalítica (PCD) com dióxido de titânio

As propriedades fotocatalíticas do dióxido de titânio (TiO_2) são amplamente conhecidas e foram encontradas muitas aplicações para o mesmo, nomeadamente a remoção de contaminantes orgânicos e a criação de vidro de autolimpeza. Hoje em dia, existe um interesse crescente na aplicação de TiO_2 enquanto **fotocatalisador** para a desinfecção de superfícies, do ar e da água (Figura 6). Recentemente, foram publicadas reviews sobre a aplicação da fotocatalise enquanto sistema de desinfecção (Gamage & Zhang, 2010) (Chong, Jin, Chow, & Saint, 2010) e sobre os mecanismos de ação do TiO_2 (Dalrymple & al., 2010).

Fotocatalisador

Um **catalisador** é uma espécie química que intervém durante o desenvolvimento da reação química, aumentando a sua velocidade e permanecendo inalterado no final da mesma (ao contrário dos reagentes, que são consumidos no decorrer da reação). Um **fotocatalisador** é um catalisador que modifica a velocidade de uma reação química mediante a ação da luz.

Radical

Define-se como radical (ou radical livre) uma entidade molecular muito reativa com um tempo de vida médio por norma muito breve (na ordem dos ns), constituído por um átomo e uma molécula formada por mais átomos que apresenta um elétron ímpar: este elétron torna o radical extremamente reativo, capaz de se ligar a outros radicais ou de subtrair um elétron às moléculas vizinhas.

O dióxido de titânio fotoativado demonstrou ser capaz de destruir uma ampla gama de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos filamentosos e unicelulares, algas, protozoários, vírus e bacteriófagos. O mecanismo de destruição de microrganismos comporta a degradação da parede celular e da membrana citoplasmática devido à produção de um tipo reativo de oxigénio, nomeadamente **radicais** hidroxilos e peróxido de hidrogénio.

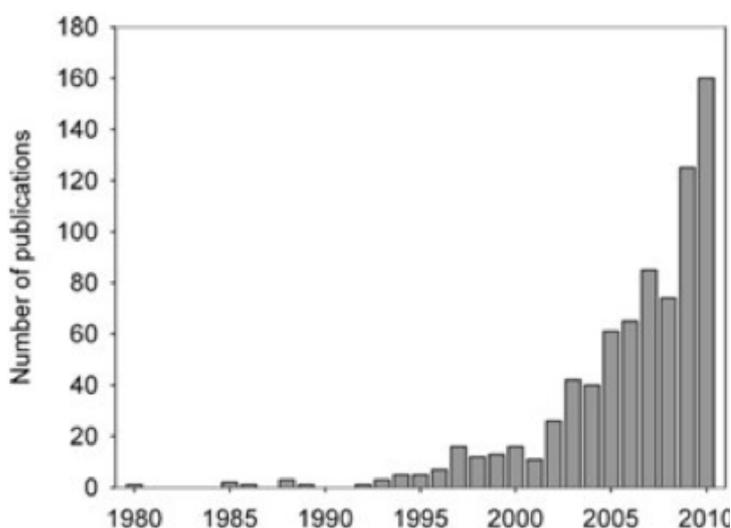


Figura 6 - Número de publicações sobre a desinfecção fotocatalítica

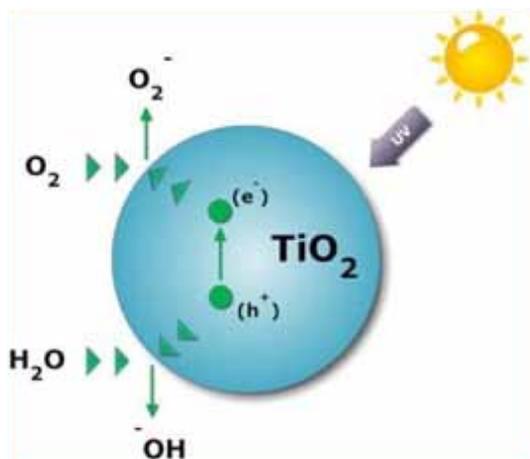
Este radical dá origem inicialmente a perdas de conteúdo celular e à lise celular, que pode ser seguida da mineralização completa do organismo. A destruição dos microrganismos é mais eficaz quando há um contacto próximo entre os organismos e o catalisador TiO_2 .

5.1 Mecanismo da fotocatalise

O bióxido de titânio é um **semicondutor** e, na natureza, existem três **polimorfismos** distintos: o **anatásio**, o **rutilo** e a **brookite**. A maior parte dos estudos demonstra que o anatásio é a forma mais eficaz do ponto de vista fotocatalítico e que o rutilo é a menos ativa; esta diferença deve-se provavelmente à extensão da reação resultante da associação entre elétrons a lacunas nas duas formas alotrópicas (Miyagi, Kamei, Mitsuhashi, Ishigaki, & Yamazaki, 2004). A absorção, por parte do TiO_2 , de um fóton com energia suficiente faz com que os elétrons passem da banda de valência (e_{vb}) para a banda de condução (e_{cb}), deixando uma lacuna com carga positiva na banda de valência (h^+ ; (1.1) (Figura 7).

Polimorfismos

O termo polimorfismo em mineralogia indica a possibilidade de uma mesma substância se apresentar em formas cristalinas diversas. Este comportamento pode apresentar-se tanto em substâncias no estado elementar (elementos químicos), como nos seus compostos. O rutilo é a forma mais comum: cada um dos átomos de titânio encontra-se rodeado octaedricamente por seis átomos de oxigénio; o anatásio (a forma mais reativa) tem uma estrutura tetragonal, mais alongada em relação ao do rutilo, enquanto a brookite tem uma estrutura ortorrômbica.



O salto energético (a energia necessária para fazer saltar um elétron) do anatásio é de cerca de 3,2 eV, o que significa que o processo de fotocatalise pode ser ativado por fótons com um comprimento de onda de cerca de 385 nm (**UV-A, 315-400 nm**).

Figura 7 - Representação esquemática do princípio da fotocatalise que mostra o diagrama do salto energético da banda de uma partícula esférica de TiO_2 .

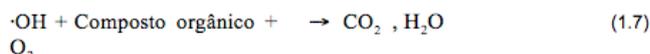
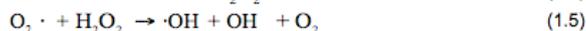
ROS

As espécies reativas do oxigênio, as ROS, são os radicais livres com maior difusão. As ROS mais importantes são ânions superóxidos O_2^- , o peróxido de hidrogênio H_2O_2 e o radical hidroxilo $\cdot OH$.

O **ânion superóxido** (O_2^-) é produzido pela redução incompleta de O_2 durante a fosforilação oxidativa de algumas enzimas (xantina oxidase) e dos leucócitos. É inativado por superóxido dismutase que, combinando-se com $2H^+$ e catalisando a reação através do seu cofator metálico (Fe, Mn, Cu, Zn ou Ni), converte-o em H_2O e O_2 . Se não for neutralizado, danifica os lipídios da membrana, as proteínas do ADN e pode inclusive estimular a produção de enzimas nos leucócitos. O **peróxido de hidrogênio** (H_2O_2) é comumente produzido pela glutatona peroxidase ou por algumas oxidases contidas no peroxissoma na H_2O e no O_2 que catalisam a reação através do seu grupo m e da glutatona peroxidase no citosol e nas mitocôndrias.

O **radical oxidrilho** ($\cdot OH$) é, regra geral, um produto da hidrólise da água devido a radiação ou é um produto da reação de Fenton, partindo do peróxido de hidrogênio (com o íon ferroso Fe^{2+} como catalisador). É a ROS mais reativa e é produzido pelos leucócitos a partir do peróxido de hidrogênio para destruir agentes patogênicos, mas em excesso provoca danos na membrana plasmática, nas proteínas e nos ácidos nucleicos. É neutralizado pela conversão de H_2O pela glutatona peroxidase.

Os elétrons ficam desta forma livres para migrarem no interior da banda de condução enquanto as lacunas podem ser preenchidas pela migração de um elétron de uma molécula adjacente, deixando uma nova lacuna, fazendo com que o processo se repita. Por conseguinte, também as lacunas são móveis. Os elétrons e as lacunas podem recombinar-se (processo de massa) através de uma reação não produtiva que reduz a eficiência do processo, ou gerar, quando atingem a superfície, espécies reativas de oxigênio (**ROS**), como o radical superóxido O_2^- (1.2) e o radical hidroxilo $\cdot OH$ (1.3). Estes radicais, ao reagirem com as moléculas de água, produzem H_2O_2 (1.4), além dos radicais hidroxilos (1.5) e hidroperóxido (1.6). A reação dos radicais com compostos orgânicos dá origem à sua mineralização (1.7).



5.2 Ação fotocatalítica nos microrganismos

A fotocatalise demonstrou conseguir destruir uma vasta gama de organismos, nomeadamente as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (incluindo os endósporos), os fungos, as algas, os protozoários e os vírus, e revelou ainda conseguir neutralizar príões (Paspaltsis, et al., 2006) e destruir toxinas micróbicas. Apenas os quistos de *Acanthamoeba* e os conidióforos de *Trichoderma asperellum* apresentaram uma certa resistência, embora não tenham sido estudados de forma extensiva. A capacidade de eliminar todos os outros tipos de microrganismos indica que as superfícies fotocatalíticas têm o potencial de serem auto-esterilizantes. Não obstante, até hoje, é mais correto fazer referência às superfícies fotocatalíticas como um sistema auto-desinfetante e não auto-esterilizante. Em muitos estudos, foram utilizadas culturas puras de microrganismos, mesmo existindo estudos em que é evidenciada a atividade fotocatalítica em culturas mistas (Van Grieken, Marugan, Pablos, & Lopez, 2010) e comunidades naturais (Armon, Laot, Narkis, & Neeman, 1998) (Araña & al., 2002) (Cho & al., 2007a).

5.2.1 Bactérias Gram-Negativas

A maior parte dos estudos centraram-se na *Escherichia coli* (Figura 8) (Sökmen, Candan, & Sümer, 2001) (Dunlop & al., 2010) (Pal & al., 2007). Outros exemplos de bactérias Gram-negativas que são suscetíveis à PCD incluem os cocos, os bacilos e as formas filamentosas de géneros diferentes (Tabela 8).

Tabela 8 – Algumas das Bactérias Gram-negativas elimináveis mediante desinfeção fotocatalítica

Organismo	Referência
ACINETOBACTER	(CHENG & AL., 2009)
COLIFORMI	(ARAÑA & AL., 2002)
ENTEROBACTER AEROGENES	(IBÁÑEZ & AL., 2003)
ENTEROBACTER CLOACAE SM1	(YAO & AL., PHOTOCATALYTIC DISINFECTION OF PHYTOPHYTOPATHOGENIC VISIBLE LIGHT., 2007A)
COLIFORMI FECALI	(WATTS & AL., 1995)
FLAVOBACTERIUM SP.	(COHEN-YANIV & AL., 2008)
FUSOBACTERIUM NUCLEATUM	(BAI & AL., 2007)
LEGIONELLA PNEUMOPHILA	(CHENG & AL., 2007)
MICROCYSTIS	(KIM & AL., 2005)
P. AERUGINOSA (FIGURA 9)	(KÜHN & AL., 2003)
P. FLUORESCENS B22	(SKORB & AL.,
2008) SALMONELLA ENTERITIDIS TYPHIMURIUM	(CUSHNIE & AL., 2009)
SHIGELLA FLEXNERI	(CHENG & AL., 2009)
VIBRIO VULNIFICUS	(SONG & AL., 2008)



Figura 8 - *E. coli* vistas ao microscópio eletrônico de varrimento.



Figura 9 - *Pseudomonas aeruginosa*

5.2.2 Bactérias Gram-Positivas

Muitos estudos evidenciaram que as bactérias Gram-positivas são mais resistentes à desinfecção fotocatalítica do que as Gram-negativas (Kim & al., 2003) (Liu & al., 2003) (Erkan & al., 2006) (Pal & al., 2007) (Muszkat & al., 2005) (Hu & al., 2007) (Sheel & al., 2008) (Skorb & al., 2008). Este comportamento divergente é atribuído em exclusivo à estrutura distinta das paredes celulares existente entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As bactérias Gram-negativas têm uma parede celular com três camadas, constituída por uma membrana interna (IM), uma camada fina de peptidoglicano (PG) e uma membrana externa (OM), enquanto as Gram-positivas possuem um PG mais fino e não têm OM. Contudo, o número de estudos que demonstra esta maior sensibilidade das Gram-positivas é bastante limitado.

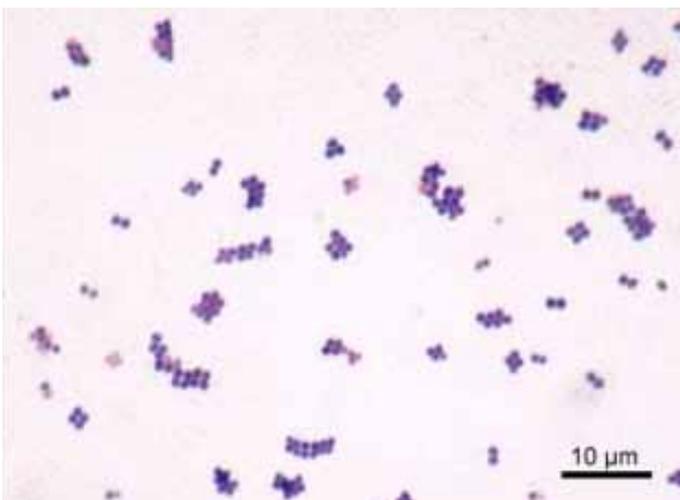


Figura 10 - *Staphylococcus aureus*

Na Tabela 9 são enumeradas as bactérias Gram-positivas eliminadas mediante PCD: foram incluídos 17 géneros, entre os quais microrganismos esporíferos aeróbios e anaeróbios. Os endósporos apresentaram-se, em termos gerais, mais resistentes à ação da PCD do que as células vegetativas.

Tabela 9 – Algumas das bactérias Gram-positivas elimináveis mediante desinfecção fotocatalítica

Organismo	Referência
BACILLUS CEREUS	(CHO & AL., TITANIUM DIOXIDE/UV PHOTOCATALYTIC DISINFECTION IN FRESH CARROTS., 2007A)
BACILLUS CEREUS SPORES	(ARMOR & AL., 2004)
BACILLUS SUBTILIS VEGETATIVE CELLS AND ENDOSPORES	(WOLFRUM & AL., 2002)
BACILLUS SUBTILIS ENDOSPORES	(GREIST & AL., 2002)
CLOSTRIDIUM DIFFICILE	(DUNLOP & AL., 2010)
CLOSTRIDIUM PERFRINGENS SPORES	(GUIMARÃES & AL., 2003)
ENTEROCOCCUS (STREPTOCOCCUS) FAECALIS	(SINGH & AL., 2005)
ENTEROCOCCUS HIRAE	(TSUANG & AL., 2008)
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS	(CHOI & AL., 2007A)
LISTERIA MONOCYTOGENES	(KIM & AL., 2003)
MICROBACTERIUM SP. MICROBACTERIACEAE STR. W7	(PAL & AL., 2007)
MRSA	(OKA & AL., 2008)
MYCOBACTERIUM SMEGMATIS	(KOZLOVA & AL., 2010)
STAPHYLOCOCCUS AUREUS (FIGURA 10)	(SHIRAIISHI & AL., 1999)
STREPTOCOCCUS MUTANS	(CHUN & AL., 2007)

5.2.3 Fungos, algas e protozoários

Vários estudos demonstraram a sensibilidade dos fungos, das algas e dos protozoários à PCD. Entre estes, incluem-se os fungos filamentosos, as leveduras, as amebas, a apicomplexa, diplomonadida, ciliados e algas, incluindo as diatomáceas. Na Tabela 10 são identificados alguns fungos passíveis de serem eliminados por PCD.

Tabela 10 - Alguns dos fungos elimináveis mediante desinfecção fotocatalítica

Organismo	Referência
ASPERGILLUS NIGER	(CHEN & AL., 2009)
A. NIGER SPORES	(WOLFRUM & AL., 2002)
CANDIDA ALBICANS (FIGURA 11)	(LONNEN & AL., 2005)
CLADOSPORIUM CLADOSPOIROIDES	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
EPICOCCUM NIGRUM	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
FUSARIUM MUCOR	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
PENICILLIUM OXALICUM	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
PESTAOTIOPSIS MACULANS	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
2009) SACCHARAROMYCES CEREVISIAE	(ERKAN & AL., 2006)
SPICELLUM ROSEUM	(SAWADA & AL., 2005)
TRICHODERMA ASPERELLUM	(GIANNANTONIO & AL., 2009)
2009) TRICHODERMA HARZIANUM	(SAWADA & AL., 2005)

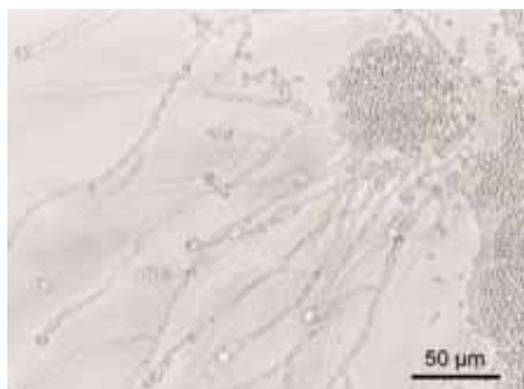


Figura 11 – Candida albicans

5.2.4 Vírus

Os vírus suscetíveis a neutralização por PCD são identificados na Tabela 11. A maior parte dos estudos foram conduzidos em bacteriófagos de *E. coli* em suspensão, permitindo demonstrar a ação viricida da PCD em vírus ssARN com simetria icosaédrica (MS2 e Q β), vírus ssARN filamentosos (fr), vírus ssADN (ϕ -X174) e vírus dsADN (λ e T4). No que diz respeito a vírus de mamíferos nos estudos, foram estudados o poliovírus 1, os vírus influenza humana (Figura 12) e aviária e o coronavírus da SARS.

Tabela 11 - Alguns dos vírus elimináveis mediante desinfecção fotocatalítica

Hospedeiro	Vírus	Referência
PÁSSAROS	INFLUENZA (AVIÁRIA) A/H5N2	(GUILLARD & AL., 2008)
E. COLI	COLIFAGO	(GUIMARÃES & AL., 2003)
E. COLI	FR	(GERRITY & AL., 2008)
E. COLI	T4	(DITTA & AL., 2008)
E. COLI	λ VIR	(YU & AL., 2008)
E. COLI	λNM1149	(BELHÁCOVÁ & AL., 1999)
E. COLI	φX174	(GERRITY & AL., 2008)
E. COLI	MS2	(VOHRA & AL., 2006)
E. COLI	Qβ	(OTAKI & AL., 2000)
HOMEM	EPATITE B ANTIGENE HBsAg	(ZAN & AL., 2007)
HOMEM	INFLUENZA A/H1N1	(LIN & AL., 2006)
HOMEM	INFLUENZA A/H3N2	(KOZLOVA & AL., 2010)
HOMEM	NOROVIRUS	(KATO & AL., 2005)
HOMEM	POLIOVIRUS TIPO 1	(WATTS & AL., 1995)
HOMEM	SARS CORONAVIRUS	(HAN & AL., 2004)
HOMEM	VACCINIA	(KOZLOVA & AL., 2010)

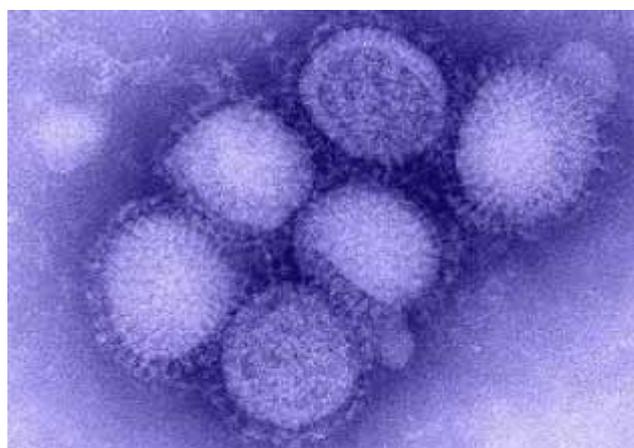


Figura 12 - Vírus influenza A subtipo H1N1

5.2.5 Toxinas bacterianas

Diversos estudos demonstraram que a atividade fotocatalítica consegue neutralizar as toxinas bacterianas, entre as quais as endotoxinas das bactérias Gram-negativas e as toxinas das cianobactérias (Tabela 12).

Tabela 12

Toxina	Referência
BREVETOXINAS	(KHAN & AL., 2010)
CILINDROSPERMOSINA	(SENOGLES & AL., 2001)
ENDOTOXINA LIPOPOLISACCARIDE	(SUNADA & AL., 1998)
MICROCISTINA-LR	(FEITZ & AL., 2003)
MICROCISTINA LR, YA e YR	(SHEPHARD & AL., 1998)
NODULARINA	(LIU & AL., 2005)

5.3 Mecanismo de eliminação das bactérias

O modo de atuação do TiO₂ fotoativado foi estudado tanto para as bactérias Gram-positivas como para as Gram-negativas. Enquanto mecanismo de eliminação das bactérias, inicialmente foi proposta a depleção da coenzima A mediante dimerização e consequente inibição da respiração (Matsunaga & al., 1988). Contudo, existem provas irrefutáveis de que a ação letal se deve à rotura da membrana e das paredes celulares. Estas provas derivam de estudos de microscopia, da deteção dos produtos de **peroxidação lipídica**, da perda de componentes intercelulares (por exemplo, catiões, ARN e proteínas), da permeabilidade de moléculas de baixo peso molecular (por exemplo, o-nitrofenil-galactosido – ONPG) e de estudos espectroscópicos.

5.3.1 Variações da permeabilidade celular

As provas indiretas de danos ocorridos nas membranas celulares foram encontradas em estudos de perda de componentes celulares. Num estudo (Saito & al., 1992), foi evidenciado que existe uma rápida perda de K⁺ em células tratadas com AHT *Streptococcus sobrinus*, que tal perda ocorre após 1 minuto de exposição se dá em

simultâneo com a perda de vitalidade, seguida de uma libertação mais lenta de ARN e de proteínas. Enquanto decorre a morte celular das *E. coli*, foi constatada uma perda de K⁺ (Hu & al., 2007) (Kambala & al., 2009). Num outro estudo notável (Huang & al., 2000) em que as células de *E. coli* foram expostas a PCD, verificou-se que após um aumento inicial da permeabilidade de pequenas moléculas como a ONPG, segue-se uma saída de moléculas maiores, como a de β-D-galactosidases, sugerindo um progressivo aumento da permeabilidade da membrana.

5.3.2 Variações microscópicas durante a PCD

Estudos conduzidos com o auxílio da análise de SEM e TEM evidenciaram uma dilatação da membrana celular, seguida da formação de orifícios na OM, em particular quando as partículas de TiO₂ se encontram em contacto com as células.

Através de imagens TEM de células de *S. sobrinus*, foi possível verificar que ocorre a rutura parcial da parede celular na sequência de um tratamento fotocatalítico de 60 min com TiO₂, apresentando posteriores desequilíbrios depois de 120 min de tratamento (Saito & al., 1992). Os autores sugeriram que a morte celular pode ser causada pela alteração na permeabilidade celular e pela decomposição das paredes celulares. Imagens SEM de *S. aureus*, MRSA, *E. coli* e *M. luteus* demonstraram que, após irradiação com UV-A no TiO₂, ocorreram alterações morfológicas associadas às interrupções na parede celular (Kangwansupamonkon & al., 2009).

SEM e TEM

O SEM (acrónimo inglês de Scanning Electron Microscope) e o TEM (acrónimo inglês de Transmission Electron Microscope) são dos tipos de microscópios eletrónicos. O poder de resolução (a distância mínima a que se podem distinguir dois pontos, em vez de um só) de um microscópio eletrónico normal SEM com cátodo de tungsténio ronda os 5 nm, mas, para alguns modelos, chega a alcançar 1 nm. O poder de resolução de um microscópio eletrónico de transmissão TEM é de cerca de 0,2 nm, ou seja, cerca de 500 mil vezes maior do que o do olho humano.

Na parede celular de *P. aeruginosa* foram evidenciadas, mediante análise com SEM e TEM (Figura 13), alterações na estrutura da membrana do tipo “bubble-like protuberances which expelled cellular material” (Amezaga-Madrid & al., 2002) (Amezaga-Madrid & al., 2003)

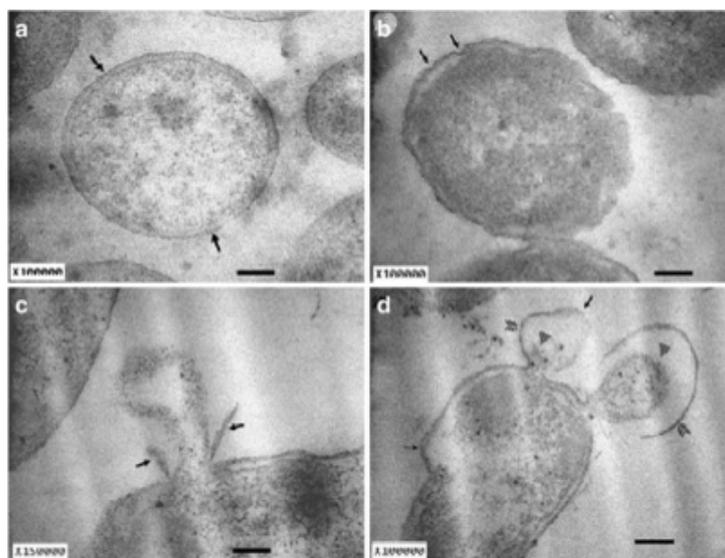


Figura 13 - Microscópio eletrónico de transmissão, com células *P. aeruginosa* tratadas com TiO₂. A secção transversal das células não tratadas demonstra a espessura e a forma das paredes celulares normais (setas). b-d Após um tratamento de 240 min, as células demonstraram uma parede celular com ondulações anormais (setas) (b), saída de material citoplasmático da célula com uma parede celular danificada (setas) (c) e células que apresentavam duas “bolhas” de material celular na parede celular (setas) (d). Unidade de medida = 200 nm. De (Amezaga-Madrid & al., 2003)

Os cientistas evidenciaram uma saída de material celular e uma divisão celular anormal, embora as bolhas possam dever-se a danos localizados na camada de peptidoglicano e a uma conseqüente dilatação da membrana interna. Num outro trabalho, foi estudada a neutralização de *E. coli* em películas finas de TiO₂ – foi possível demonstrar que ocorreu um dano inicial na membrana externa e, posteriormente, uma degradação completa da membrana citoplasmática – a neutralização fotocatalítica ocorreu sem uma degradação substancial visível do peptidoglicano. A decomposição inicial da membrana externa foi comprovada através de medições de microscopia de força atómica das células na película de TiO₂ irradiada (Sunada & al., 2003b).

Análises TEM de secções finas de células tratadas com TiO₂ fotoativado permitiram evidenciar vários graus de rotura da célula, entre os quais a plasmólise e detritos celulares (Vacaroiu & al., 2009). Novamente através de uma análise TEM, foi possível observar a separação da membrana citoplasmática da cama de peptidoglicano nas células tratadas com *S. aureus* (Chung & al., 2009). Análises SEM permitiram demonstrar alterações na membrana externa de *E. coli* (Li & al., 2008) (Shah & al., 2008) (Gartner & al., 2009), a formação de produtos de degradação da membrana (Erdem & al., 2006) e a distorção de células, tanto de MRSA como de *S. aureus* sensível a metilicilino (MSSA) tratadas com anatásio (Shah & al., 2008) e, em todos os casos, foram encontradas provas de danos nas paredes celulares.

A microscopia de força atómica foi ainda utilizada para evidenciar danos na membrana de *E. coli*, *S. aureus* e *Diplococcus (Streptococcus) pneumoniae* em camadas finas de TiO₂ (Miron & al., 2005).

A demonstração da destruição da endotoxina de *E. coli* sem degradação substancial do peptidoglicano (Sunada

& al., 1998) indica que, no caso das bactérias Gram-negativas, a destruição da célula ocorreu de acordo com o esquema OM®PG®IM. Contudo, pode não ser fácil identificar, numa micrografia eletrónica, as alterações da camada de peptidoglicano que se caracteriza por ser uma estrutura altamente reticulada e sobre a qual podem ocorrer danos consideráveis, mesmo se o seu aspeto geral permanecer inalterado. Pode ocorrer uma destruição localizada se as partículas de TiO₂ se encontrarem em contacto com a célula: este processo pode dar origem a uma protusão da membrana interna através da parede celular (Amezaga- Madrid & al., 2003), seguida de uma rotura completa da própria parede.

A ação do TiO₂ pode levar a uma danificação do ADN mas esta é provavelmente uma etapa tardia que se sucede à rotura da membrana e à morte celular (Wamer & al., 1997) (Hirakawa & al., 2004) (Wang & al., 2005) (Gogniat & al., TiO₂ photocatalysis causes DNA damage via Fenton reaction-generated hydroxyl radicals during the recovery period., 2007) (Shen & al., 2008) (Yao & al., 2007c) (Yang & al., 2008) .

5.3.3 Estudos espectroscópicos

Recorrendo a uma análise difratométrica de raios-X (Suwalsky & al., 2005), a espectroscopia a laser cinética e a espectroscopia ATR-FTIR, foi possível relacionar a atividade do dióxido de titânio sobre uma camada fosfolipídica dupla com a destruição da estrutura da própria dupla camada. Esta destruição deve-se à peroxidação lipídica por parte das ROS (Kiwi & al., New evidence for TiO₂ photocatalysis during bilayer lipid peroxidation., 2004) (Nadtochenko & al., 2006), mensurada através da produção de malondialdeído (MDA) enquanto produto da rotura da membrana celular, correspondendo a uma perda de atividade respiratória da membrana, mensurada pela redução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (Maness & al., 1999). A peroxidação lipídica ocorre quando ácidos gordos polinsaturados, como o ácido linoleico, se ligam a ROS (Kiwi & al., 2005).

Espectros FTIR de *E. coli* tratados por fotocatalise confirmaram a produção de MDA como produto da degradação da membrana celular, o qual é posteriormente degradado com períodos de irradiação mais longos (Hu & al., 2007).

O decaimento eletrónico do TiO₂ foi estudado mediante espectroscopia a laser cinética, na presença de fosfatidiletanolamina, lipossacarídeos e *E. coli* (Nadtochenko & al., 2006). Estudos espectroscópicos FTIR evidenciaram que os componentes orgânicos ligados ao TiO₂ são diretamente oxidados por redução das lacunas eletrónicas (Nadtochenko & al., Inactivation of pathogenic microorganisms in the photocatalytic process on nanosized TiO₂ crystals., 2008). Este procedimento sugere que a oxidação direta dos componentes celulares pode ocorrer sem a produção de ROS, mas apenas se as células se encontrarem em contacto direto com a superfície de TiO₂. Esta descoberta corrobora a eficácia aumentada da PCD quando as células se encontram em contacto com o TiO₂, em vez de em suspensão. No geral, os estudos espectroscópicos corroboram os estudos de microscopia e confirmam a ordem de destruição OM®IM®PG (Dalrymple & al., 2010).

5.4 Papel das ROS no mecanismo de eliminação

O papel das ROS no mecanismo de eliminação das bactérias encontra-se esquematizado na Figura 14. A maior parte dos estudos demonstram que as ROS são responsáveis pela eliminação dos microrganismos e vários autores propõem que a principal ação seja levada a cabo por radicais hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) (Ireland & al., 1993) (Kikuchi & al., 1997) (Maness & al., 1999) (Salih & al., 2002) (Cho & al., 2004) (Cho & al., 2005) (Cho & Yoon, 2008).

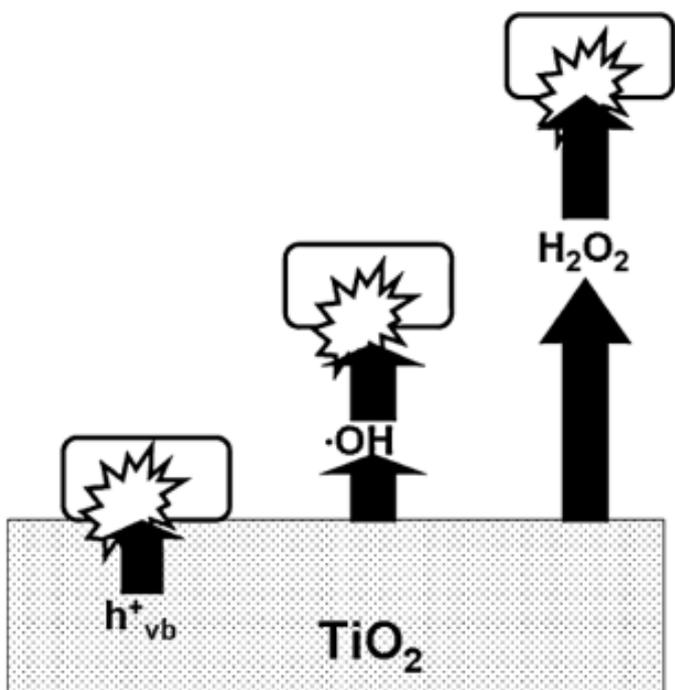


Figura 14 – Papel das ROS na eliminação fotocatalítica das bactérias. Quando as células se encontram em contacto direto com o catalisador, pode ocorrer uma oxidação direta dos componentes celulares. O radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) e o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) atuam, respetivamente, a nível local e à distância do catalisador (Sato & Taya, 2006c).

De facto, acrescentar dimetilsulfóxido e cisteamina (dois *scavengers* de $\cdot\text{OH}$) a uma suspensão de TiO_2 em água anula a atividade da PCD (Salih & al., 2002). Não obstante, os $\cdot\text{OH}$ possuem uma vida curta e provavelmente não se difundem mais do que $1\ \mu\text{m}$ a contar da superfície do TiO_2 , especialmente na presença de substâncias orgânicas (Pryor, 1986) (Kikuchi & al., 1997). Kikuchi et al demonstraram que a eliminação de *E. coli* ocorre inclusive quando as bactérias são separadas da superfície por intermédio de uma membrana porosa com uma espessura de $50\ \mu\text{m}$. Contudo, constatou-se também que a eliminação das bactérias é inibida por manito (*scavenger* de radicais livres) apenas na ausência da membrana e de catálise (que deveria degradar o H_2O_2) com ou sem membrana. Este facto sugere que o $\cdot\text{OH}$ e o H_2O_2 são responsáveis pela eliminação das bactérias nas proximidades da superfície de TiO_2 , onde a ação de H_2O_2 se estende até uma determinada distância.

ESR

A Ressonância Paramagnética Eletrónica ou Ressonância de Spin Eletrónico, conhecida por EPR (a sigla inglesa *Paramagnetic Resonance*) ou ESR (do inglês *Electron Spin Resonance*) consiste numa técnica espectroscópica utilizada para identificar e analisar espécies químicas que contêm um ou mais eletrões ímpares (denominados espécie paramagnética). Incluem-se nestes eletrões: radicais livres, íons de metais de transição, defeitos em cristais, moléculas em estado eletrónico de tripleto fundamental (por ex. o oxigénio molecular) ou induzidas por fotoexcitação.

Um estudo de ESR sobre o mecanismo de ação de $\cdot\text{OH}$ e H_2O_2 produzidos por ativação UV de uma camada fina de TiO_2 evidenciou que os $\cdot\text{OH}$ são produzidos inclusive por fotólise direta do H_2O_2 , além de nas reações (1.3) e (1.4) (Yan & al., 2009).

No radical hidroxilo foi identificada a espécie ROS que participa mais ativamente na eliminação de quistos de *C. parvum* (Cho & Yoon, 2008).

Estudos levados a cabo com *E. coli superóxido desmutases (SOD)-carente* evidenciaram que o dano oxidativo produzido na membrana e associado à pressão interna da célula permeabiliza o envelope celular, permitindo a saída de metabólitos essenciais (Imlay & Fridovich, 1992).

5.5 Importância do contacto entre bactérias e TiO_2

Diferentes estudos demonstraram que um contacto próximo entre as bactérias e o TiO_2 aumenta os danos oxidativos (Horie & al., 1996a) (Gumy & al., 2006a) (Pratap Reddy & al., 2008) (Caballero & al., 2009) (Cheng & al., 2009). Alguns destes estudos evidenciaram que o TiO_2 é muito mais ativo em suspensão do que imobilizado sobre uma superfície (Lee & al., 1997) (Otaki & al., 2000) (Sun & al., 2003) (Gumy & al., 2006b) (Marugan & al., 2006) (Marugan & al., 2008) (Cohen-Yaniv & al., 2008). Este facto deve-se provavelmente a um maior contacto entre as partículas de TiO_2 e as células bacterianas em suspensão, além de existir uma maior área de superfície útil para a produção de ROS.

Mediante microscopia ótica (Nadtochenko & al., 2005) (Gumy & al., 2006b) (Gogniat & al., 2006) e eletrónica, foi possível demonstrar com clareza a relação existente entre as partículas de titânio e as células bacterianas (Gumy & al., 2006a) (Saito & al., 1992) (Cheng & al., 2007) (Shah & al., 2008). Na Figura 15 é exibida uma micrografia eletrónica que mostra partículas de TiO_2 ligadas a uma célula de *E. coli*.

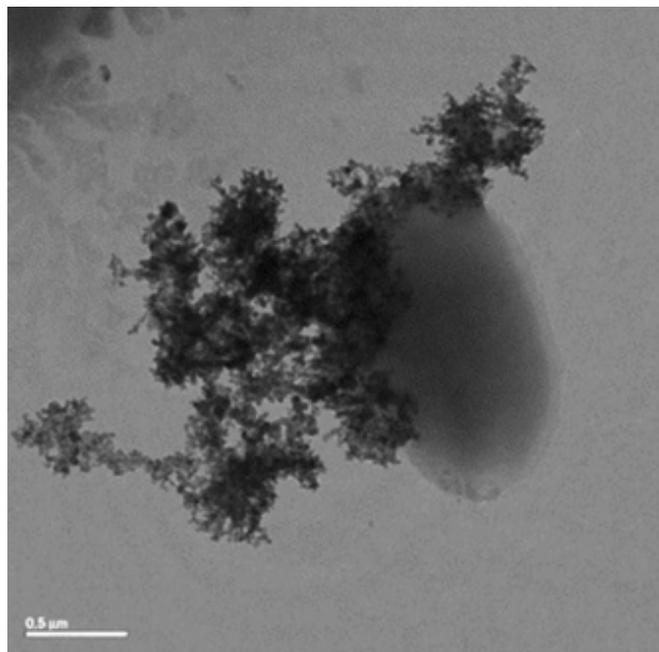


Figura 15 – TEM de *E. coli* que mostra a adesão entre a célula e o TiO_2 em suspensão (Gumy & al., 2006b).

5.6 Mineralização da célula

Após os danos celulares iniciais e a conseqüente morte celular, a fotocatalise demonstrou conseguir mineralizar completamente as bactérias (Jacoby & al., 1998) (Wolfrum & al., 2002).

O mecanismo de eliminação das bactérias por parte do TiO_2 encontra-se esquematizado na Figura 16. Inicialmente, podem ocorrer danos devido ao contacto entre as células e o TiO_2 que comprometem a permeabilidade da membrana mas que são reversíveis. Numa segunda fase, ocorrem danos maiores, que comprometem todas as camadas da parede celular e que permitem a perda de moléculas pequenas,

nomeadamente de iões. Nesta fase, os danos podem ser irreversíveis, e podem ser acompanhados da morte das células. Uma vez que o peptidoglicano é uma molécula altamente reticulada, estes danos podem não ser facilmente visíveis nesta fase ou podem ser localizados (se o TiO₂ estiver em contacto com as células). Um dano posterior à membrana faz com que atravessem a mesma componentes de alto peso molecular como as proteínas. Este procedimento pode ser seguido pela protusão da membrana citoplasmática para o meio circundante através de zonas degradadas do peptidoglicano e, por fim, da ocorrência da lise celular. Neste caso, pode verificar-se uma degradação dos componentes internos da célula, seguida de uma mineralização completa. Este processo de degradação pode ocorrer de forma gradual a partir da face da célula que se encontrar em contacto com o catalisador.

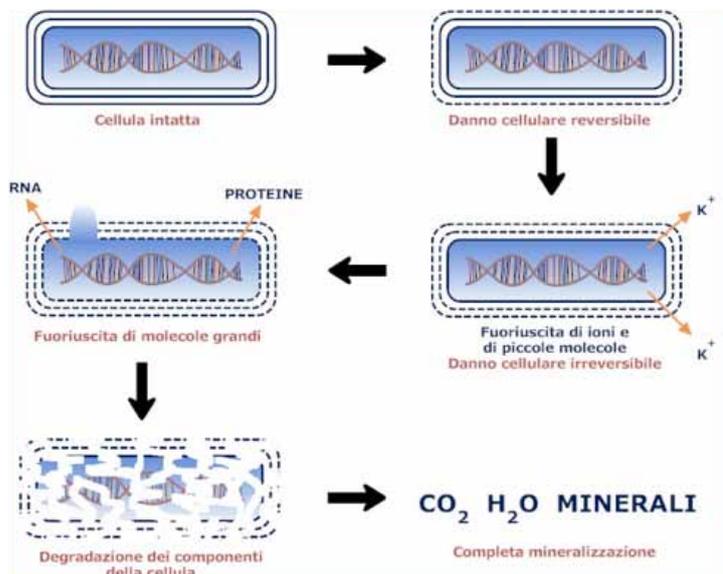


Figura 16 – Esquema do mecanismo de eliminação e destruição das bactérias por parte do TiO₂.

5.7 Efeito do fluxo da radiação UV-A

A neutralização das bactérias mediante fotocatalise heterogénea com UV-A (315-400 nm) e TiO₂ é considerada uma das tecnologias de desinfecção mais eficazes, uma vez que durante o processo não há formação de substâncias cancerígenas, mutagénicas ou fétidas (Ibanez & al., 2003).

Pelo contrário, embora as **lâmpadas fluorescentes** já estejam à venda no mercado, é limitado o número de estudos que relata uma análise aprofundada da sua eficácia, sobretudo em termos de desinfecção microbiana.

Uma lâmpada fluorescente pode emitir uma fração muito pequena de UV-A (Harm, 1980), pois é essencialmente uma lâmpada de mercúrio de baixa pressão com a superfície interna revestida por vários tipos de fósforos que absorvem a radiação de 254 nm e emitem comprimentos de onda maiores (Bolton, 2002). Mesmo se o invólucro de vidro em redor da lâmpada absorver toda a emissão de UV longínquos, as lâmpadas fluorescentes comuns (*daylight* ou *cool white*) irradiam quantidades notáveis de 313, 334, e 365 nm das linhas de emissão espectral do mercúrio. A estes comprimentos de onda, uma emissão muito mais intensa é típica das lâmpadas *blacklight*, por vezes utilizadas nos locais devido aos seus efeitos fluorescentes.

A eficiência da neutralização bacteriana segue uma cinética de primeira ordem a respeito das colónias de bactérias (N_t), definida pela equação

$$\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -kt$$

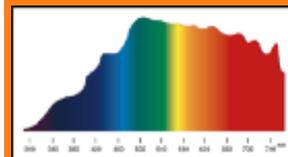
onde, N_t é o número de UFC após uma irradiação de t min.; N_0 aos 0 min.; k é a constante de veloc. de neutralização; N_t/N_0 sobrevivência.

Na ausência de TiO₂, a exposição a radiação fluorescente aparentemente neutraliza várias estirpes de bactérias (Pal & al., 2007). A Figura 17 mostra que em cerca de 2 h foram neutralizadas 40-50% de *E. coli* K-12, *P. fluorescens* e *Paenibacillus* sp. SAFN-007, 20% de *B. subtilis* e apenas 13% de *Microbacterium* sp.. De facto, na literatura

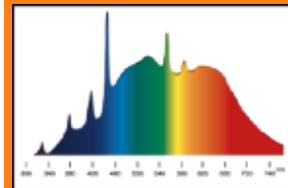
Lâmpadas fluorescentes

A lâmpada fluorescente é um tipo de lâmpada de descarga em que a emissão luminosa (visível) é indireta, ou seja, o emissor não é o gás ionizado mas sim um material fluorescente (daí o seu nome).

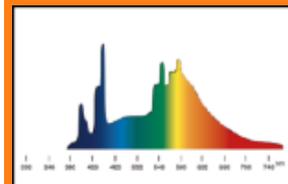
As lâmpadas com fluorescência, graças ao seu espectro característico e de baixos níveis de radiação UV-A e UV-B (semelhantes à luz natural do dia), estimulam o metabolismo e o funcionamento das glândulas. Demonstram também um efeito positivo sobre o sistema nervoso autónomo.



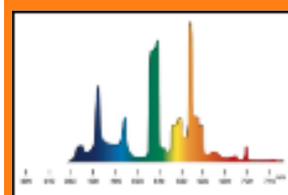
Distribuição da energia espectral da luz natural.



Lâmpada fluorescente



Color padrão universal branca



Trifósforo cor branca neutra

alguns estudos demonstram que a exposição a raios UV-A pode dar origem a radicais reativos de oxigênio no interior das células, causando um stresse oxidativo com danos celulares subsequentes (Kühn & al., 2003). Além disso, observou-se que a luz UV com um comprimento de onda na gama de 320-400 nm provoca danos nos microrganismos, sobretudo devido à excitação de moléculas fotossensíveis presentes no interior da célula, gerando desta forma espécies ativas como $O_2^{\bullet-}$, e H_2O_2 , e $\bullet OH$ que incidem sobre o genoma e sobre outras moléculas intracelulares com consequências nefastas, dando origem a mutações celulares, atrasos no crescimento, etc. (Oguma & al., 2002).

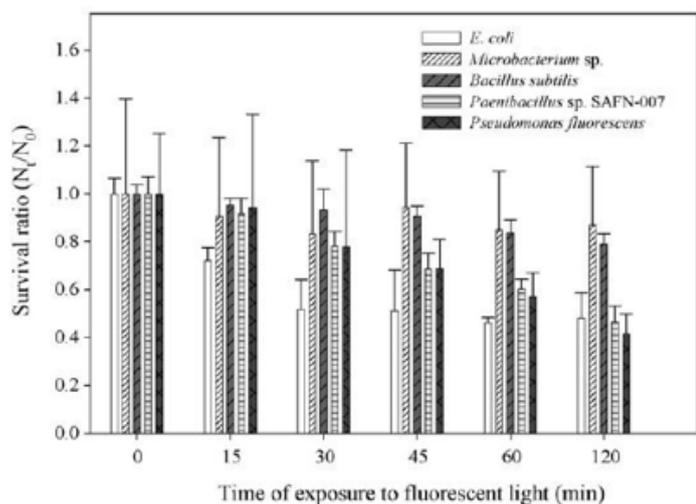


Figura 17 – Quociente de sobrevivência (N_t/N_0) em função da duração da exposição (na ausência de TiO_2) *E. coli* K-12, *P. fluorescens*, *Microbacterium sp.*, *Paenibacillus sp. SAFN-007* e *B. subtilis*. Os dados apresentados nesta figura correspondem às médias de três réplicas. N_t é o número de UFC após uma irradiação de t min.; N_0 é o número de UFC aos 0 min (Pal & al., 2007).

Como foi dito anteriormente, a neutralização das bactérias por parte do TiO_2 irradiado com luz fluorescente apresenta uma cinética de reação de primeira ordem. A intensidade de neutralização aumenta para todas as bactérias com o aumento da exposição à luz fluorescente. Contudo, as bactérias a nível individual demonstram um ritmo diferente do da constante de velocidade de neutralização, quando se aumenta a quantidade de TiO_2 . Na Figura 18 é apresentada a neutralização de *E. coli* K-12 aos 0, 15, 30, 45, 60 e 120 min utilizando uma lâmpada fluorescente com uma intensidade de UV-A (365 nm) correspondente a $0,013 \text{ mW/cm}^2$ ($13 \mu \text{ W/cm}^2$), ou seja, a seis doses de UV-A (0 - 11,7 - 23,4 - 35,1 - 46,8 - 93,6 mJ/cm^2 , respetivamente), na presença de diferentes quantidades de TiO_2 . Um aumento da quantidade de TiO_2 de 234 para 1.666 mg/m^2 melhora a eficiência da neutralização de *E. coli* K-12. Com uma quantidade de 234 mg/m^2 TiO_2 , mais de 98% de *E. coli* K-12 são neutralizadas após 60 min ($46,8 \text{ mJ/cm}^2$) de irradiação fluorescente.

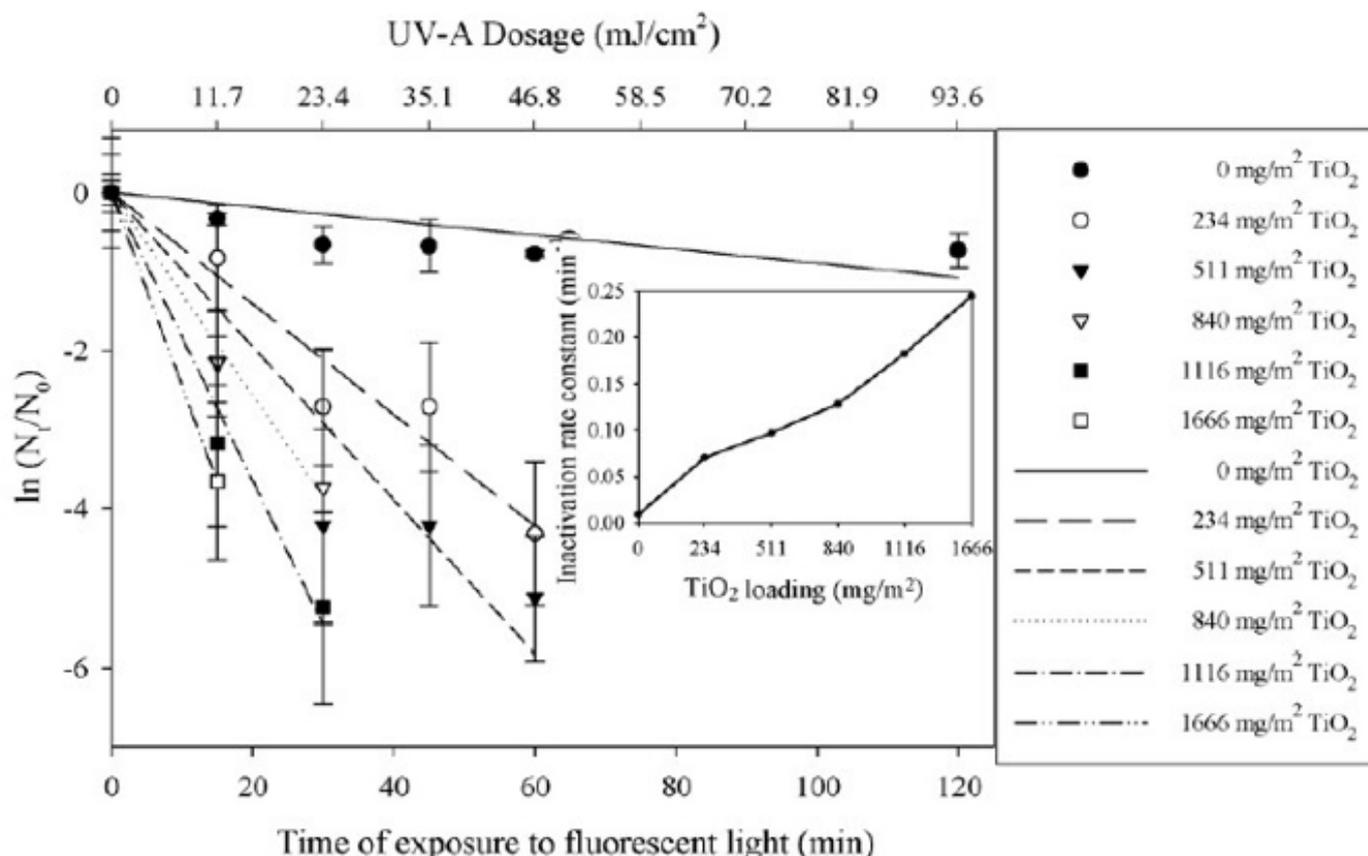


Figura 18 – Neutralização fotocatalítica de *E. coli* K-12 na presença de diferentes quantidades de TiO_2 . Cada um dos pontos representa a média de experiências triplicadas (Pal & al., 2007).

Quando a concentração de TiO₂ é superior a 1.666 mg/m², mais de 96% de bactérias são neutralizadas após 15 minutos de exposição e todas as bactérias são neutralizadas após uma exposição de 30 minutos. Estes dados são encorajadores uma vez que uma intensidade de UV-A de apenas 0,013 mW/cm², disponível na radiação fluorescente, produz uma eficiência de neutralização comparável à obtida por Huang (Huang & al., 2000), que detetou danos nas paredes das células de *E. coli* após 20 minutos de exposição com luz UV-A de 0,8 mW/cm² na presença de TiO₂.

Uma vez que uma quantidade maior de TiO₂ pode aumentar a produção de espécies reativas do oxigénio (ROS) capazes de reagir com as paredes celulares, a membrana citoplasmática e outros componentes intracelulares, a velocidade de neutralização resultante aumenta de forma significativa. Estes resultados vão de encontro aos de estudos anteriores nos quais foi observada uma maior neutralização de *E. coli* no meio aquoso quando eram utilizadas elevadas concentrações de TiO₂ na presença de radiação UV-vis superior a 380 nm (Wei & al., 1994) ou sobre uma irradiação de UV-A (Cho & al., 2004).

Tabela 13 - Constantes da velocidade de neutralização de *E. coli*, *Microbacterium sp.* e *B. subtilis* mediante fotocatalise com uma fonte de UV-A e lâmpada fluorescente (Pal & al., 2007).

TiO ₂ (mg/m ²)	Constantes (k) de primeira ordem da velocidade de neutralização em min ⁻¹					
	Neutralização com lâmpada fluorescente (0,013 mW/cm ² de UV-A)			Neutralização com uma fonte de UV-A (4,28 mW/cm ²)		
	<i>E. coli</i> K-12	<i>B. subtilis</i>	<i>Microbacterium sp.</i>	<i>E. coli</i> K-12	<i>B. subtilis</i>	<i>Microbacterium sp.</i>
0	0,009	0,0022	0,005	0,175	0,1279	0,171
234	0,070	0,0027	0,027	0,180	0,1263	0,238
511	0,097	0,0032	0,031	0,243	0,1807	0,262
840	0,129	- ^a	0,018	0,290	0,1979	- ^b

^a Dados indisponíveis

^b Erro experimental

A Tabela 13 evidencia que, independentemente das fontes luminosas utilizadas, as constantes da velocidade de neutralização aumentam com o aumento da quantidade de TiO₂ (até 840 mg/m²), inclusive se a uma lâmpada fluorescente (que possui uma baixa intensidade de UV-A de 0,013 mW/cm²) corresponderem constantes de velocidade de neutralização muito mais pequenas do que as relativas à neutralização com fontes de UV-A (que possui uma intensidade de 4,28 mW/cm²). Este fenómeno é expectável uma vez que a intensidade da fonte de UV-A é cerca de 330 vezes maior do que a disponível na lâmpada fluorescente. Embora a *B. subtilis* e *Microbacterium sp.* sejam mais resistentes ao tratamento fotocatalítico do que *E. coli* K-12, estas demonstraram ser muito sensíveis a uma intensidade UV-A mais elevada (Tabela 13) e que o efeito foi ligeiramente superior na ausência de TiO₂ (carga de 0 mg/m²). Na presença de TiO₂, as velocidades de neutralização revelaram ser superiores num fator de 2,57-56, em particular para as bactérias Gram-positivas (*B. subtilis* e *Microbacterium sp.*). Estes resultados indicam duas possibilidades: (i) que as reações dos radicais $\cdot\text{OH}$ e de outras espécies reativas podem neutralizar significativamente as bactérias Gram-positivas relativamente aos danos incorridos pelo excitação de moléculas fotossensíveis presentes no interior das células, (ii) que 0,013mW/m² de radiação UV-A disponível na lâmpada fluorescente é suficiente para excitar a quantidade de TiO₂ utilizada no presente estudo. Em trabalhos posteriores, foi demonstrado que a neutralização de *E. coli* é maior com o aumento da intensidade da radiação incidente (Chen & al., 2009) (Benabbou & al., 2007) (Rincón & Pulgarín, 2003). Quando a quantidade de fótons aumenta, geram-se mais pares de eletrões/lacunas que levam à formação de mais radicais $\cdot\text{OH}$. Noutro estudo, foi comprovada a existência de uma correlação linear entre a neutralização de *E. coli* e a concentração de $\cdot\text{OH}$ (Cho & al., 2004). Esta dependência linear da velocidade de reação com o fluxo de fótons foi detetada exclusivamente para baixas intensidades de radiação, uma vez que a intensidades elevadas, a concentração dos elementos portadores de carga é de tal forma grande que é maioritariamente favorecida a recombinação (uma reação de segunda ordem), a qual limita a eficiência do processo (Vincze & Kemp, 1995) (Herrmann, 1999). Quando, pelo contrário, a radiação incidente diminui, é observado um atraso inicial mais comprido. Este facto vai de encontro às previsões, considerando que o número de danos cumulativos necessários para neutralizar as bactérias deve permanecer o mesmo: consequentemente, se o número de fótons disponíveis diminuir (e, por conseguinte, a quantidade de radicais de $\cdot\text{OH}$), é necessário um tempo de irradiação maior para se poder produzir danos irreversíveis.

6 Bibliografía

- Amezaga-Madrid, P., & al. (2002). Photoinduced bactericidal activity against *Pseudomonas aeruginosa* by TiO₂ based thin films. *FEMS Microbiol Lett*, 211(2), 183-188.
- Amezaga-Madrid, P., & al. (2003). TEM evidence of ultrastructural alteration on *Pseudomonas aeruginosa* by photocatalytic TiO₂ thin films. *J Photochem Photobiol B*, 70(1), 45–50.
- Ansari, S., & al. (1988). Rotavirus survival on human hands and transfer of infectious virus to inanimate and nonporous inanimate surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, 1513-1518.
- Araña, J., & al. (2002). TiO₂-photocatalysis as a tertiary treatment of naturally treated wastewater. *Catal Today*, 76(2-4), 279–289.
- Armon, R., Laot, N., Narkis, N., & Neeman, I. (1998). Photocatalytic inactivation of different bacteria and bacteriophages in drinking water at different TiO₂ concentrations with or without exposure to O₂. *Adv Oxid Technol*, 3, 145–150.
- Armor, R., & al. (2004). Disinfection of *Bacillus* spp. spores in drinking water by TiO₂ photocatalysis as a model for *Bacillus anthracis*. *Waterborne Pathog*, 4(2), 7–14.
- Bai, S., & al. (2007). Characterization and antibacterial effect of a novel nanocomposite membrane. *Bioceramics 19 published in Key Eng Mater*, 330– 332(1), 325–328.
- Barker, J., & al. (2004). Effects of cleaning and disinfection in reducing the spread of norovirus contamination via environmental surfaces. *J Hosp Infect*, 58, 42–49.
- Belhácová, L., & al. (1999). Inactivation of microorganisms in a flow-through photoreactor with an immobilized TiO₂ layer. *J Chem Technol Biotechnol*, 74(2), 149–154.
- Benabbou, A., & al. (2007). Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli*. Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature and intensity of UV irradiation. *App. Cat. B: Environ.*, 76(3-4), 257-263.
- Bhalla, A., & al. (2004). Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25, 164–167.
- Blaschke-Hellmessen, R., & al. (1985). Umweltresistenz und natürliche Keimreservoirs medizinisch bedeutsamer Sprosspilze. *Zeitschrift für die gesamte Hygiene*, 31, 712-715.
- Bolton, J. (2002). Fundamentals of ultraviolet light. *First Asia Regional Conference on Ultraviolet Technologies for Water, Wastewater & Environmental Applications*. Singapore.
- Bonten, M., & al. (1996). Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*, 348, 1615–1619.
- Boyce, J., & al. (1997). Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18, 622–627.
- Boyce, J., & al. (2008). Impact of hydrogen peroxide vapor room decontamination on *Clostridium difficile* environmental contamination and transmission in a healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29, 723–729.
- Bures, S., & al. (2000). Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 28, 465-471.
- Butz, A., & al. (1993). Prevalence of rotavirus on high-risk fomites in day-care facilities. *Pediatrics*, 92, 202-205.
- Caballero, L., & al. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* on immobilized TiO₂ using fluorescent light. *J Photochem Photobiol A*, 202(2-3), 92–98.
- Catalano, M., & al. (1999). Survival of *Acinetobacter baumannii* on bed rails during an outbreak and during sporadic cases. *Journal of Hospital Infection*, 42, 27- 35.
- CDC. (1996). National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from October 1986 through April 1996, issued May 1996. *American Journal of Infection Control*, 24, 380-388.

- Chadwick, P., & al. (2000). Management of hospital outbreaks of gastro-enteritis due to small roundstructured viruses. *Journal of Hospital Infection*, 45, 1-10.
- Chen, F., & al. (2009). Antifungal capability of TiO₂ coated film on moist wood. *Build Environ*, 44(5), 1088–1093.
- Chen, F., & al. (2009). Correlation of photocatalytic bactericidal effect and organic matter degradation of TiO₂. Part I: Observation of phenomena. *Environ. Sci. & Tech.*, 43(4), 1180-1184.
- Chen, Y., & al. (2004). SARS in hospital emergency room. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 782-788.
- Cheng, C., & al. (2009). The effects of the bacterial interaction with visible-light responsive titania photocatalyst on the bactericidal performance. *J Biomed Sci*, 16(7), 10.
- Cheng, Y., & al. (2007). Disinfection of *Legionella pneumophila* by photocatalytic oxidation. *Wat Res*, 41(4), 842–852.
- Cho, M., & al. (2004). Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Wat Res*, 38(4), 1069–1077.
- Cho, M., & al. (2005). Different inactivation behaviors of ms-2 phage and *Escherichia coli* in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Appl Environ Microbiol*, 71(1), 270–275.
- Cho, M., & al. (2007a). Titanium dioxide/UV photocatalytic disinfection in fresh carrots. *J Food Prot*, 70(1), 97–101.
- Cho, M., & Yoon, J. (2008). Measurement of OH radical ct for inactivating *Cryptosporidium parvum* using photo/ferrioxalate and photo/TiO₂ systems. *J Appl Microbiol*, 104(3), 759–766.
- Choi, J., & al. (2007a). Photocatalytic antibacterial effect of TiO₂ film formed on Ti and TiAg exposed to *Lactobacillus acidophilus*. *J Biomed Mater Res B*, 80(2), 353–359.
- Chong, M., Jin, B., Chow, C., & Saint, C. (2010). Recent developments in photocatalytic water treatment technology: a review. *Wat Res*, 44(10), 2997–3027.
- Chun, M., & al. (2007). Surface modification of orthodontic wires with photocatalytic titanium oxide for its antiadherent and antibacterial properties. *Ang Orthodont*, 77(3), 483–488.
- Chung, C., & al. (2009). Inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* under various light sources on photocatalytic titanium dioxide thin film. *Surf Coat Technol*, 203(8), 1081–1085.
- Cohen-Yaniv, V., & al. (2008). Photocatalytic inactivation of *Flavobacterium* and *E. coli* in water by a continuous stirred tank reactor (CSTR) fed with suspended/immobilised TiO₂ medium. *Wat Sci Technol*, 58(1), 247–252.
- Cox, C. (1995). Chapter 6: Stability of airborne microbes and allergens. In C. Cox, & C. Wathes, *Bioaerosols Handbook*. Boca Raton, FL: CRC-Lewis Publishers.
- Cox, C., & Baldwin, F. (1967). The toxic effect of oxygen upon the aerosol survival of *Escherichia coli*. *J Gen Microbiol*, 49, 115-117.
- Cushnie, T., & al. (2009). Variables to be considered when assessing the photocatalytic destruction of bacterial pathogens. *Chemosphere*, 74(10), 1374–1378.
- Dalrymple, O., & al. (2010). A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Appl Catal B*, 98(1-2), 27–38.
- Dancer, S., & al. (2009). Measuring the effect of enhanced cleaning in a UK hospital: a prospective cross-over study. *BMC Med*, 7, 28.
- Ditta, I., & al. (2008). Photocatalytic antimicrobial activity of thin surface films of TiO₂, CuO and TiO₂/CuO dual layers on *Escherichia coli* and bacteriophage T4. *Appl Microbiol Biotechnol*, 79(1), 127–133.
- Duckro, A., & al. (2005). Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. *Archives*

of *Internal Medicine*, 165, 302-307.

Dunlop, P., & al. (2010). Inactivation of clinically relevant pathogens. *J Photochem Photobiol A*, 216, 303–310.

Engelhart, S., & al. (2002). Pseudomonas aeruginosa outbreak in a haematology- oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. *Journal of Hospital Infection*, 52, 93-98.

Erdem, A., & al. (2006). Growth and some enzymatic responses of E. coli to photocatalytic TiO₂. 2006 NSTI Nanotechnology Conference and Trade Show - NSTI Nanotech 2006 Technical Proceedings, (p. 588–591).

Erkan, A., & al. (2006). Photocatalytic microbial inactivation over Pd doped SnO₂ and TiO₂ thin films. *J Photochem Photobiol A*, 184(3), 313–321.

Feitz, A., & al. (2003). Kinetic modeling of TiO₂-catalyzed photodegradation of trace levels of microcystin-LR. *Environ Sci Technol*, 37(3), 561–568.

Fierobe, L., & al. (2001). An outbreak of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii in critically ill surgical patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 22, 35-40.

Fitzpatrick, F., & al. (2000). A purpose built MRSA cohort study. *Journal of Hospital Infection*, 46, 271-279.

Gamage, J., & Zhang, Z. (2010). Applications of photocatalytic disinfection. *Int J Photoen 2010*, Article ID 764870, 11 pp.

Gartner, M., & al. (2009). The simulation in the real conditions of antibacterial activity of TiO₂ (Fe) films with optimized morphology. *Nanostruct Mater Nanotechnol*, 29(8), 67–76.

Gerrity, D., & al. (2008). Photocatalytic inactivation of viruses using titanium dioxide nanoparticles and low-pressure UV light. *J Environ Sci Health A*, 43(11), 1261– 1270.

Ghirardini, A., & al. (2012). *Manuale di formazione per il governo clinico: la sicurezza dei pazienti e degli operatori*. DIPARTIMENTO DELLA PROGRAMMAZIONE E DELL'ORDINAMENTO.

Giannantonio, D., & al. (2009). Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling. *Int Biodeterior Biodegrad*, 63(3), 252–259.

Gogniat, G., & al. (2006). The bactericidal effect of TiO₂ photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity. *FEMS Microbiol Lett*, 258(1), 18–24.

Gogniat, G., & al. (2007). TiO₂ photocatalysis causes DNA damage via Fenton reaction-generated hydroxyl radicals during the recovery period. *Appl Environ Microbiol*, 73(23), 7740–7743.

Greist, H., & al. (2002). Using scanning electron microscopy to visualize photocatalytic mineralization of airborne microorganisms. *Proceedings of the 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*, (p. 712–717). Monterey, California.

Guillard, C., & al. (2008). Microbiological disinfection of water and air by photocatalysis. *C R Chim*, 11(1-2), 107–113.

Guimarães, J., & al. (2003). Photocatalytic inactivation of Clostridium perfringens and coliphages in water. *Braz J Chem Eng*, 20(4), 403–411.

Gumy, D., & al. (2006a). Catalytic activity of commercial TiO₂ powders for the abatement of the bacteria (E. coli) under solar simulated light: influence of the isoelectric point. *Appl Catal B*, 63, 76–84.

Gumy, D., & al. (2006b). Solar photocatalysis for detoxification and disinfection of water: different types of suspended and fixed TiO₂ catalysts study. *Sol Energy*, 80(10), 1376–1381.

Gwaltney, J., & Hendley, J. (1982). Transmission of experimental rhinovirus infection by contaminated surfaces. *American Journal of Epidemiology*, 116, 828-833.

Han, W., & al. (2004). The inactivation effect of photocatalytic titanium apatite filter on SARS virus. *Prog Biochem Biophys*, 31(11), 982-985.

Hanna, H., & al. (2000). Control of nosocomial Clostridium difficile transmission in bone marrow transplant patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 21, 226-228.

- Hardy, K., & al. (2006). A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and patients' acquisition of MRSA. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27, 127–132.
- Harm, W. (1980). *Biological effects of ultraviolet radiation*. New York: Cambridge University Press.
- Hayden, M., & al. (2006). Reduction in acquisition of vancomycin-resistant enterococcus after enforcement of routine environmental cleaning measures. *Clin Infect Dis*, 42, 1552–1560.
- Hayden, M., & al. (2008). Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-resistant enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 29, 149–154.
- Herrmann, J. (1999). Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. *Cat. Today*, 53(1), 115–129.
- Hirakawa, K., & al. (2004). Photo-irradiated titanium dioxide catalyzes site specific DNA damage via generation of hydrogen peroxide. *Free Radic Res*, 38(5), 439–447.
- Horie, Y., & al. (1996a). Effects of light intensity and titanium dioxide concentration on photocatalytic sterilization rates of microbial cells. *Ind Eng Chem Res*, 35(11), 3920–3926.
- Hu, C., & al. (2007). Photocatalytic degradation of pathogenic bacteria with AgI/TiO₂ under visible light irradiation. *Langmuir*, 23(9), 4982–4987.
- Huang, Z., & al. (2000). Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J Photochem Photobiol A*, 130(2-3), 163–170.
- Ibáñez, J., & al. (2003). Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on *Enterobacter cloacae*. Comparative study with other Gram (-) bacteria. *J Photochem Photobiol A*, 157(1), 81–85.
- Ibanez, J., & al. (2003). Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on *Enterobacter cloacae*: Comparative study with other Gram (-) bacteria. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 6283, 1-5.
- Imlay, J., & Fridovich, I. (1992). Suppression of oxidative envelope damage by pseudoreversion of a superoxide dismutase-deficient mutant of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 174(3), 953–961.
- Ireland, J., & al. (1993). Inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Appl Environ Microbiol*, 59(5), 1668–1670.
- Jacoby, W., & al. (1998). Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. *Environ Sci Technol*, 32(17), 2650-2653.
- Jiang, X., & al. (1998). Pathogen transmission in child care settings studied by using a cauliflower virus DNA as a surrogate marker. *J Infect Dis*, 177, 881–888.
- Kaatz, G., & al. (1988). Acquisition of *Clostridium difficile* from the hospital environment. *American Journal of Epidemiology*, 127, 1289-1294.
- Kambala, V., & al. (2009). Disinfection studies on TiO₂ thin films prepared by a sol–gel method. *J Biomed Nanotechnol*, 5(1), 121–129.
- Kangwansupamonkon, W., & al. (2009). Antibacterial effect of apatite-coated titanium dioxide. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 5, 240-249.
- Kato, T., & al. (2005). Degradation of norovirus in sewage treatment water by photocatalytic ultraviolet disinfection. *Nippon Steel Tech Rep*, 92, 41–44.
- Khan, U., & al. (2010). UV and solar TiO₂ photocatalysis of brevetoxins (pbtxs). *Toxicon*, 55(5), 1008–1016.
- Kikuchi, Y., & al. (1997). Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect. *J Photochem Photobiol A*, 106(1-3), 51–56.

- Kim, B., & al. (2003). Bactericidal effect of TiO₂ photocatalyst on selected food- borne pathogenic bacteria. *Chemosphere*, 52(1), 277–281.
- Kim, S., & al. (2005). Inactivation of algal blooms in eutrophic water of drinking water supplies with the photocatalysis of TiO₂ thin film on hollow glass beads. *Wat Sci Technol*, 52(9), 145–152.
- Kiwi, J., & al. (2004). New evidence for TiO₂ photocatalysis during bilayer lipid peroxidation. *J Phys Chem B*, 108(45), 17675–17684.
- Kiwi, J., & al. (2005). Evidence for the mechanism of photocatalytic degradation of the bacterial wall membrane at the TiO₂ interface by ATR-FTIR and laser kinetic spectroscopy. *Langmuir*, 21(10), 4631–4641.
- Kowalski, W. (2006). *Aerobiological Engineering Handbook*. McGraw-Hill Professional.
- Kozlova, E., & al. (2010). Inactivation and mineralization of aerosol deposited model pathogenic microorganisms over TiO₂ and Pt/TiO₂. *Environ Sci Technol*, 44(13), 5121–5126.
- Kramer, A., & al. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? a systematic review. *BMC Infect Dis*, 6, 130.
- Kühn, K., & al. (2003). Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*, 53(1), 71–77.
- Lee, S., & al. (1997). Photocatalytic inactivation of phage Q β By immobilized titanium dioxide mediated photocatalyst. *Wat Sci Technol*, 35, 101–106.
- Lemmen, S., & al. (2004). Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *Journal of Hospital Infection*, 56, 191-197.
- Li, Y., & al. (2008). Inactivated properties of activated carbon-supported TiO₂ nanoparticles for bacteria and kinetic study. *J Environ Sci*, 20(12), 1527–1533.
- Lin, Z., & al. (2006). Inactivation efficiency of TiO₂ on H1N1 influenza virus. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao Chem J Chin Univ*, 27(4), 721–725.
- Ling, M., & al. (2001). A nosocomial outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* originating from an intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 22, 48-49.
- Liu, H., & al. (2003). Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus helveticus* by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light. *Proc Biochem*, 39(4), 475–481.
- Liu, I., & al. (2005). The photocatalytic destruction of the cyanotoxin, nodularin using TiO₂. *Appl Catal B*, 60(3-4), 245–252.
- Lonnen, J., & al. (2005). Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *Wat Res*, 39(5), 877-883.
- Mahamat, A., & al. (2007). Impact of infection control interventions and antibiotic use on hospital MRSA: a multivariate interrupted time-series analysis. *Int J Antimicrob Agents*, 30, 169–176.
- Maness, P., & al. (1999). Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl Environ Microbiol*, 65(9), 4094–4098.
- Mangram, A., & al. (1999). Guideline for prevention of surgical site infection. *American Journal of Infection Control*, 27, 98-134.
- Manian, F., & al. (2010). Impact of an intensive terminal cleaning and disinfection (C/D) protocol involving selected hospital rooms on endemic nosocomial infection (NI) rates of common pathogens at a tertiary care medical center. *5th Decennial Meeting of the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)*, (p. Abstract LB6). Atlanta.
- Martinez, J., & al. (2003). Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-

resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit. *Archives of Internal Medicine*, 163, 1905-1912.

Marugan, J., & al. (2006). Analogies and differences between photocatalytic oxidation of chemicals and photocatalytic inactivation of microorganisms. *Wat Res*, 44(3), 789–796.

Marugan, J., & al. (2008). Kinetics of the photocatalytic disinfection of Escherichia coli suspensions. *Appl Catal B*, 82(1-2), 27–36.

Marugán, J., & al. (2010). Analogies and differences between photocatalytic oxidation of chemicals and photocatalytic inactivation of microorganisms. *Water Res*, 44, 789-796.

Matsunaga, T., & al. (1988). Continuous-sterilization system that uses photoconductor powders. *Appl Environ Microbiol*, 54(6), 1330–1333.

Mayfield, J., & al. (2000). Environmental control to reduce transmission of Clostridium difficile. *Clin Infect Dis*, 31, 995–1000.

Mbithi, J., & al. (1992). Survival of hepatitis A virus on human hands and its transfer on contact with animate and inanimate surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 757-763.

Miron, C., & al. (2005). Photoinduced bactericidal activity of TiO₂ thin films obtained by radiofrequency magnetron sputtering deposition. *J Optoelectron Adv Mater*, 7(2), 915–919.

Miyagi, T., Kamei, M., Mitsuhashi, T., Ishigaki, T., & Yamazaki, A. (2004). Charge separation at the rutile/anatase interface: a dominant factor of photocatalytic activity. *Chem Phys Lett*, 390(4–6), 399–402.

Mukhopadhyay, A., & al. (2004). SARS in a hospital visitor and her intensivist. *Journal of Hospital Infection*, 56, 249-250.

Muszkat, L., & al. (2005). Solar photo-inactivation of phytopathogens by trace level hydrogen peroxide and titanium dioxide photocatalysis. *Phytoparasitica*, 33(3), 267–274.

Nadtochenko, V., & al. (2005). Dynamics of E. coli membrane cell peroxidation during TiO₂ photocatalysis studied by ATR-FTIR spectroscopy and AFM microscopy. *J Photochem Photobiol A*, 169(2), 131–137.

Nadtochenko, V., & al. (2006). Laser kinetic spectroscopy of the interfacial charge transfer between membrane cell walls of E. coli and TiO₂. *J Photochem Photobiol A*, 181(2-3), 401–407.

Nadtochenko, V., & al. (2008). Inactivation of pathogenic microorganisms in the photocatalytic process on nanosized TiO₂ crystals. *Russ J Phys Chem B*, 2(1), 105–114.

Neely, A., & al. (2000). Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabric and plastic. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 724-726.

Oguma, K., & al. (2002). Photoreactivation of Escherichia coli after low- or medium- pressure UV disinfection determined by an endonuclease sensitive site assay. *Appl Environ Microbiol*, 68, 6029–6035.

Oka, Y., & al. (2008). Efficacy of titanium dioxide photocatalyst for inhibition of bacterial colonization on percutaneous implants. *J Biomed Mater Res B*, 86(2), 530–540.

Otaki, M., & al. (2000). Aqueous microorganisms inactivation by photocatalytic reaction. *Wat Sci Technol*, 42(3-4), 103–108.

Pal, A., & al. (2007). Photocatalytic inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria using fluorescent light. *J Photochem Photobiol A*, 186(2-3), 335–341.

Paspaltsis, I., Kotta, K., Lagoudaki, R., Grigoriadis, N., Poullos, I., & Sklaviadis, T. (2006). Titanium dioxide photocatalytic inactivation of prions. *J Gen Virol*, 87(10), 3125–3130.

Passaretti, C., & al. (2008). Adherence to hydrogen peroxide vapor (HPV) decontamination reduces VRE acquisition in high-risk units. *48th Annual Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA)*, (p. Abstract K-4124b). Washington.

Pratap Reddy, M., & al. (2008). Photocatalytic disinfection of Escherichia coli over titanium(IV) oxide supported

on Zeolite. *Catal Lett*, 123(1-2), 56–64.

Pryor, W. (1986). Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Ann Rev Physiol*, 48, 657–663.

Rangel-Frausto, M., & al. (1994). An experimental model for study of *Candida* survival and transmission in human volunteers. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13, 590-595.

Ray, A., & al. (2002). Nosocomial transmission of vancomycin-resistant enterococci from surfaces. *JAMA*, 287, 1400–1401.

Rheinbaben, F., & al. (2000). Transmission of viruses via contact in a household setting: experiments using bacteriophage straight phiX174 as a model virus. *J Hosp Infect*, 46, 61–66.

Rincón, A., & Pulgarín, C. (2003). Photocatalytic inactivation of *E. coli*: effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO₂ concentration. *App. Cat. B: Environ.*, 44(3), 263-284.

Rüden, H., & al. (1997). Nosocomial and community-acquired infections in Germany. Summary of the results of the first national prevalence study (NIDEP). *Infection*, 25, 199-202.

Rusin, P., & al. (2002). Comparative surface-to-hand and fingertip-to-mouth transfer efficiency of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, and phage. *J Appl Microbiol*, 93, 585–592.

Saito, T., & al. (1992). Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO₂ on mutants streptococci. *J Photochem Photobiol B*, 14(4), 369–379.

Salih, F., & al. (2002). Enhancement of solar inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *J Appl Microbiol*, 92(5), 920–926.

Samore, M., & al. (1996). Clinical and molecular epidemiology of sporadic and clustered cases of nosocomial *Clostridium difficile* diarrhea. *Am J Med*, 100, 32–40.

Sato, T., & Taya, M. (2006c). Copper-aided photo sterilization of microbial cells on TiO₂ film under irradiation from a white light fluorescent lamp. *Biochem Eng J*, 30(2), 199–204.

Sawada, D., & al. (2005). Disinfection of some pathogens of mushroom cultivation by photocatalytic treatment. *Mycosci*, 46(1), 54-60.

Scott, E., & Bloomfield, S. (1990). The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *Journal of Applied Bacteriology*, 68, 271-278.

Senogles, P.-J., & al. (2001). Photocatalytic degradation of the cyanotoxin cylindrospermopsin, using titanium dioxide and UV irradiation. *Wat Res*, 35(5), 1245–1255.

Shah, R., & al. (2008). The antibacterial effects of biphasic brookite–anatase titanium dioxide nanoparticles on multiple-drug-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Nanotechnol*, 4(3), 339–348.

Sheel, D., & al. (2008). Biocidal silver and silver/titania composite films grown by chemical vapour deposition. *Int J Photoenergy*, Article ID 168185, 11 pp.

Shen, X., & al. (2008). Visible light-induced plasmid DNA damage catalyzed a CdSe/ZnS-photosensitized nano-TiO₂ film. *Environ Sci Technol*, 42(14), 5049– 5054.

Shephard, G., & al. (1998). Photocatalytic degradation of cyanobacterial microcystin toxins in water. *Toxicon*, 36(12), 1895–1901.

Sherertz, R., & al. (2001). “Cloud” health care workers. Emerging. *Emerging Infectious Diseases*, 7, 241-244.

Shiraishi, F., & al. (1999). Photolytic and photocatalytic treatment of an aqueous solution containing microbial cells and organic compounds in an annularflow reactor. *Chem Eng Sci*, 54(10), 1547–1552.

Singh, A., & al. (2005). Photocatalytic disinfection of water using immobilized titanium dioxide. *Poll Res*, 24(1), 29–33.

- Skorb, E., & al. (2008). Antibacterial activity of thin-film photocatalysts based on metal-modified TiO₂ and TiO₂:In₂O₃ nanocomposite. *Appl Catal B*, 84(1-2), 94–99.
- Sökmen, M., Candan, F., & Sümer, Z. (2001). Disinfection of E. coli by the Ag–TiO₂/UV system: lipidperoxidation. *J Photochem Photobiol A*, 143(2-3), 241–244.
- Song, S., & al. (2008). Fabrication of TiO₂ impregnated stainless steel fiber photocatalysts and evaluation of photocatalytic activity. *J Korean Ind Eng Chem*, 19(6), 674–679.
- Sun, D., & al. (2003). Photocatalytic degradation of E. coliform in water. *Wat Res*, 37(14), 3452–3462.
- Sunada, K., & al. (1998). Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ thin film photocatalysts. *Environ Sci Technol*, 32(5), 726–728.
- Sunada, K., & al. (2003b). Studies on photokilling of bacteria on TiO₂ thin film. *J Photochem Photobiol A*, 156(1-3), 227–233.
- Suwalsky, M., & al. (2005). Evidence for the hydration effect at the semiconductor phospholipid-bilayer interface by TiO₂ photocatalysis. *J Photochem Photobiol B*, 78(3), 253–258.
- Tsuang, Y., & al. (2008). Studies of photokilling of bacteria using titanium dioxide nanoparticles. *Artific Organs*, 32(2), 67–174.
- Vacariou, C., & al. (2009). The effect of thermal treatment on antibacterial properties of nanostructured TiO₂ (N) films illuminated with visible light. *World J Microbiol Biotechnol*, 25(1), 27–31.
- Van Grieken, R., Marugan, J., Pablos, C., & Lopez, A. (2010). Comparison between the photocatalytic inactivation of Gram-positive E. phytopathogenic bacteria by dye-sensitized TiO₂ thin film activated by visible light. *Surf Coat Technol*, 202(4-7), 1329–1332.
- Verity, P., & al. (2001). Prospective evaluation of environmental contamination by Clostridium difficile in isolation side rooms. *Journal of Hospital Infection*, 49, 204-209.
- Vincze, L., & Kemp, T. (1995). Light flux and light flux density dependence photomineralization rate of 2,4-dichlorophenol and acid in the presence of TiO₂. *J. of Photochem. and Photobiol. A: Chem.*, 87(3), 257-260.
- Vohra, A., & al. (2006). Enhanced photocatalytic disinfection of indoor air. *Appl Catal B*, 64(1-2), 57–65.
- von Rheinbaben, F., & al. (2000). Transmission of viruses via contact in a household setting: experiments using bacteriophage strain phiX174 as a model virus. *Journal of Hospital Infection*, 46, 61-66.
- Wamer, W., & al. (1997). Oxidative damage to nucleic acids photosensitized by titanium dioxide. *Free Radical Biol Med*, 23(6), 851–858.
- Wang, Y., & al. (2005). Disinfection and bactericidal effect using photocatalytic oxidation. *Trans Hong Kong Inst Eng*, 12(1), 39–43.
- Ward, R., & al. (1991). Prevention of surface-to-human transmission of rotaviruses by treatment with disinfectant spray. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 1991-1996.
- Watts, R., & al. (1995). Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent. *Water Res*, 29(1), 95–100.
- Wei, C., & al. (1994). Bactericidal Activity of TiO₂ Photocatalyst in Aqueous Media: Toward a Solar-Assisted Water Disinfection System. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 934-938.
- Wilcox, M., & al. (2003). Comparison of the effect of detergent versus hypochlorite cleaning on environmental contamination and incidence of Clostridium difficile infection. *J Hosp Infect*, 54, 109–114.
- Wilde, J., & al. (1992). Detection of rotaviruses in the day care environment by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *The Journal of Infectious*, 166, 507-511.
- Wolfrum, E., & al. (2002). Photocatalytic oxidation of bacteria, bacterial and fungal spores, and model biofilm components to carbon dioxide on titanium dioxide-coated surfaces. *Environ Sci Technol*, 36(15), 3412–3419.

- Yan, G., & al. (2009). Roles of H₂O₂ and OH· in bactericidal action of immobilised TiO₂ thin film reactor: an ESR study. *Photochem Photobiol A*, 207, 153–159.
- Yang, X., & al. (2008). Photocatalytic effect on plasmid DNA damage under different UV irradiation time. *Build Environ*, 42(3), 253–257.
- Yao, K., & al. (2007a). Photocatalytic disinfection of phytophytopathogenic visible light. *Surf Coat Technol*, 202(4-7), 1329–1332.
- Yao, K., & al. (2007c). Photocatalytic effects of TiO₂/Fe thin film irradiated with visible light on cellular surface ultrastructure and genomic DNA of bacteria. *Surf Coat Technol*, 201(15), 6882–6885.
- Yu, K., & al. (2008). Removal of bioaerosols by the combination of a photocatalytic filter and negative air ions. *J Aerosol Sci*, 39(5), 377–392.
- Zan, L., & al. (2007). Photocatalysis effect of nanometer TiO₂ and TiO₂-coated ceramic plate on hepatitis B virus. *J Photochem Photobiol B*, 86(2), 165–169.