v7.n5.2026

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

LIGA CuAlNi MODIFICADA COM GRAFENO: AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIBIOFILME FRENTE À *Candida albicans*

GRAPHENE-MODIFIED CuAlNi ALLOY: IN VITRO EVALUATION OF ANTIBIOFILM ACTIVITY AGAINST Candida albicans

ALEACIÓN DE CuAlNi MODIFICADA CON GRAFENO: EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIBIOPELÍCULA FRENTE A Candida albicans

Elisabeth Aline de Melo Gomes Soares Dias[1], Lucio Roberto Cançado Castellano[2], Larissa Alves da Silva[3], Débora Moura da Silva[4], Natália Layze Costa Fernandes[5], Rodrigo Cardoso Dias[6], Luiz Felipe Fernandes Gonçalves[7]

e757773
https://doi.org/10.47820/recima21.v7i5.7773

PUBLICADO: 05/2026

RESUMO

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, a atividade antibiofilme de uma liga de CuAlNi funcionalizada com grafeno frente à *Candida albicans*. Métodos: Estudo experimental laboratorial com cepa de referência *Candida albicans* ATCC 90028. Após revitalização em *ágar Sabouraud dextrose*, a suspensão fúngica foi padronizada em 0,5 da escala de McFarland. Discos metálicos esterilizados foram posicionados sobre placas inoculadas e incubados a 35 ± 2 °C por 24 a 48 h. A avaliação concentrou-se na observação qualitativa da formação de biofilme ao redor dos discos e na análise comparativa de imagens com auxílio do *software ImageJ.* Resultados: A liga com grafeno (CuAlNiGO) apresentou menor densidade aparente e menor dispersão do biofilme quando comparada à liga sem grafeno (CuAlNi), sugerindo redução da colonização superficial por *Candida albicans* nas condições avaliadas. Conclusão: A funcionalização da liga CuAlNi com grafeno demonstrou efeito antibiofilme qualitativo promissor frente à *Candida albicans*. Os achados indicam potencial de aplicação do material em biomateriais odontológicos, embora estudos quantitativos adicionais, com controles e avaliação direta de biocompatibilidade, ainda sejam necessários.

PALAVRAS-CHAVE: Ligas. Grafeno. *Candida albicans*. Biofilmes. Biomateriais.

ABSTRACT

Objective: To evaluate, in vitro, the antibiofilm activity of a graphene-functionalized CuAlNi alloy against Candida albicans. Methods: An in vitro laboratory study was conducted using the reference strain Candida albicans ATCC 90028. After revival on Sabouraud dextrose agar, the fungal suspension was standardized to 0.5 McFarland. Sterilized metallic discs were placed on inoculated plates and incubated at 35 ± 2 °C for 24 to 48 h. The analysis focused on the qualitative observation of biofilm formation around the discs and on comparative image assessment using ImageJ software.

[1] Mestre em Ciências e Engenharia dos Materiais, Instituição: UFPB, João Pessoa, Paraíba.
[2] Doutor em Medicina Tropical e Infectologia, Instituição: UFPB, João Pessoa, Paraíba.
[3] Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Instituição: UFPB, João Pessoa, Paraíba.
[4] Graduanda em Engenharia de Materiais, Instituição: UFPB, João Pessoa, Paraíba.
[5] Graduanda em Engenharia de Materiais, Instituição: UFPB, João Pessoa, Paraíba.
[6] Graduado em Odontologia Instituição: UFRGS, Porto Alegre, RS.
[7] Mestre em Ciências Odontológicas, UFPB, João Pessoa, Paraíba.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Results: The graphene-containing alloy (CuAlNiGO) showed lower apparent biofilm density and dispersion than the alloy without graphene (CuAlNi), suggesting reduced surface colonization by Candida albicans under the tested conditions. Conclusion: Graphene functionalization of the CuAlNi alloy showed promising qualitative antibiofilm activity against Candida albicans. These findings indicate potential applicability in dental biomaterials; however, additional quantitative studies, including appropriate controls and direct biocompatibility assays, are still required.

***KEYWORDS**: Alloys. Graphene. Candida albicans. Biofilms. Biomaterials.*

RESUMEN
Objetivo: Evaluar, in vitro, la actividad antibiopelícula de una aleación de CuAlNi funcionalizada con grafeno frente a Candida albicans. Métodos: Se realizó un estudio experimental de laboratorio con la cepa de referencia Candida albicans ATCC 90028. Tras la reactivación en agar Sabouraud dextrosa, la suspensión fúngica se estandarizó a 0,5 de la escala de McFarland. Los discos metálicos esterilizados se colocaron sobre placas inoculadas y se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 a 48 h. La evaluación se centró en la observación cualitativa de la formación de biopelícula alrededor de los discos y en el análisis comparativo de imágenes mediante el software ImageJ. Resultados: La aleación con grafeno (CuAlNiGO) presentó menor densidad aparente y menor dispersión de la biopelícula en comparación con la aleación sin grafeno (CuAlNi), lo que sugiere una reducción de la colonización superficial por Candida albicans en las condiciones evaluadas. Conclusión: La funcionalización de la aleación CuAlNi con grafeno mostró una actividad antibiopelícula cualitativa prometedora frente a Candida albicans. Los hallazgos sugieren un potencial de aplicación en biomateriales odontológicos; sin embargo, aún se requieren estudios cuantitativos adicionales, con controles adecuados y evaluación directa de biocompatibilidad.

***PALABRAS CLAVE**: Aleaciones. Grafeno. Candida albicans. Biopelículas. Biomateriales*.

INTRODUÇÃO

A formação de biofilmes em biomateriais representa um desafio recorrente em odontologia e em outras áreas biomédicas, pois a adesão microbiana à superfície dos materiais pode favorecer processos infecciosos persistentes e comprometer a longevidade clínica dos dispositivos (SILVA *et al*., 2022).

Entre os microrganismos de interesse, *Candida albicans* ocupa posição de destaque por sua capacidade de aderir a diferentes substratos, formar biofilmes estruturados e apresentar maior tolerância a antifúngicos quando organizada em comunidade séssil. Esse comportamento torna relevante a investigação de superfícies capazes de dificultar a colonização inicial e a maturação do biofilme (SILVA *et al*., 2022).

A liga CuAlNi, por sua vez, reúne propriedades mecânicas e memória de forma que a tornam promissora para aplicações tecnológicas e biomédicas. Entretanto, ainda são limitados os estudos voltados à sua interação com biofilmes fúngicos, especialmente após modificação superficial com grafeno (SAEDI *et al.,* 2024; KHAN *et al*., 2025).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a atividade antibiofilme de uma liga de CuAlNi funcionalizada com grafeno frente à *Candida albicans*, buscando verificar, em caráter preliminar, se a modificação do material é capaz de reduzir a colonização fúngica superficial.

1. REFERENCIAL TEÓRICO

O grafeno e, em especial, seus derivados oxidados, vêm sendo estudados por apresentarem elevada área superficial, reatividade físico-química e potencial interação com membranas celulares microbianas. A literatura descreve que esses materiais podem interferir na adesão e na integridade de microrganismos, o que sustenta sua investigação como modificadores de superfícies metálicas (LIU *et al*., 2024; GUNGORDU ER *et al*., 2023; MARTUCI *et al*., 2025).

É indispensável aprofundar os mecanismos de ação do grafeno, especialmente do óxido de grafeno (GO), frente a microrganismos como *Candida albicans*. Estudos recentes demonstram que o GO exerce atividade antifúngica por múltiplos mecanismos, incluindo dano físico à membrana celular (efeito “nano-lâmina”), indução de estresse oxidativo por espécies reativas de oxigênio (ROS) e interferência em processos metabólicos essenciais (ZHANG *et al.,* 2023; Wang *et al*., 2022; Naderi-Nabi *et al*., 2025).

Outro ponto crítico refere-se à compreensão da formação de biofilmes por *Candida albicans* e suas implicações clínicas. O biofilme representa uma estrutura altamente organizada, composta por células fúngicas imersas em uma matriz extracelular, que confere resistência aumentada a agentes antifúngicos e ao sistema imune do hospedeiro (Silva *et al.,* 2022).

A discussão sobre biocompatibilidade deve ser ampliada à luz dos avanços recentes em biomateriais baseados em grafeno. Embora estudos indiquem potencial promissor, a biocompatibilidade do GO depende de fatores como tamanho das folhas, concentração, funcionalização química e tempo de exposição (Kim *et al*., 2025; Liu *et al.,* 2024).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de estudo experimental laboratorial, de caráter preliminar, voltado à avaliação *in vitro* da atividade antibiofilme de discos metálicos de CuAlNi com adição de grafeno frente à *Candida albicans.*

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

O planejamento amostral foi definido de forma padronizada para todos os ensaios, sendo adotado n = 3 amostras independentes por grupo experimental, conforme prática consolidada em estudos laboratoriais preliminares e exploratórios na área de biomateriais. Cada amostra foi considerada como uma unidade experimental independente, sendo confeccionada, manipulada e analisada de forma individual.

Os grupos experimentais foram assim definidos:

Grupo controle (CuAlNi): liga metálica sem adição de óxido de grafeno;

Grupo experimental (CuAlNiGO): liga metálica contendo óxido de grafeno em proporção previamente estabelecida.

Todos os corpos de prova foram confeccionados e analisados sob condições padronizadas, visando minimizar vieses experimentais relacionados ao preparo das amostras.

Os corpos de prova foram confeccionados na forma de discos metálicos, com dimensões previamente padronizadas de 10 mm de diâmetro e 3 mm de espessura, a partir da liga CuAlNi, com e sem adição de óxido de grafeno. A incorporação do GO foi realizada de maneira homogênea, respeitando a proporção estabelecida no delineamento experimental.

Após a confecção, todas as amostras foram submetidas a um protocolo padronizado de acabamento superficial, com o objetivo de garantir uniformidade entre os grupos experimentais e evitar interferências relacionadas à topografia inicial do material, conforme diretrizes da *International Organization for Standardization* descritas na ISO 10993-12.

Em seguida, os espécimes foram submetidos à limpeza em banho ultrassônico, utilizando solução apropriada para remoção de resíduos superficiais. Após secagem, as amostras foram armazenadas em ambiente controlado e estéril até a realização dos ensaios.

Foi utilizada a cepa de referência *Candida albicans* ATCC 90028. A cepa foi previamente revitalizada em *ágar Sabouraud dextrose* e incubada a 35-37 °C por 24 h. Após esse período, colônias frescas foram suspensas em solução salina estéril, com ajuste da turbidez ao padrão 0,5 da escala de *McFarland,* correspondente a aproximadamente 1 a 5 × 10^6 UFC/mL.

Para o ensaio de difusão em disco foram utilizadas placas de Petri contendo *ágar Sabouraud dextrose* (SDA). A superfície do meio foi inoculada com *swab* estéril embebido na suspensão fúngica, por espalhamento em três direções, com o objetivo de obter cobertura homogênea do inóculo. Após a inoculação, aguardaram-se 10 min para absorção do material pelo meio.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Os discos metálicos, compostos por 1,96% de grafeno (0,0588 g) e 98,04% de liga CuAlNi (2,9412 g), foram previamente esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 min. Em seguida, foram posicionados com pinça estéril sobre a superfície do ágar inoculado.

As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 a 48 h. Após a incubação, procedeu-se à avaliação qualitativa da formação de biofilme ao redor dos discos, considerando densidade aparente, dispersão e cobertura superficial. As imagens obtidas foram analisadas de forma comparativa com auxílio do *software ImageJ*.

Por se tratar de estudo preliminar com ênfase descritiva e qualitativa, não são apresentados, neste manuscrito, dados numéricos suficientes para análise estatística inferencial robusta. Assim, os resultados foram interpretados em caráter comparativo, sem pretensão de extrapolação quantitativa.

Não foi incluído controle positivo com antifúngico padrão nesta etapa do estudo, tampouco ensaio direto de citotoxicidade ou biocompatibilidade celular, aspectos que deverão compor investigações subsequentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise qualitativa do crescimento microbiano ao redor dos discos metálicos indicou comportamento distinto entre os grupos avaliados. A amostra funcionalizada com grafeno (CuAlNiGO) apresentou menor densidade aparente de biofilme e menor dispersão periférica em comparação com a liga sem grafeno (CuAlNi).

Figura 1. Formação de biofilme em liga CuAlNi com adição de grafeno (GO). Observa-se menor densidade e dispersão do biofilme ao redor do disco metálico



Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Na avaliação comparativa das imagens, observou-se que a superfície associada ao grafeno exibiu menor continuidade do biofilme e menor agregação microbiana visível. Esses achados sugerem interferência da modificação superficial na colonização por *Candida albicans* nas condições experimentais utilizadas.

A estimativa visual assistida por *ImageJ* reforçou a tendência de menor área ocupada pelo biofilme na liga CuAlNiGO. Contudo, como o presente manuscrito não apresenta valores numéricos consolidados, os resultados devem ser interpretados como evidência preliminar e qualitativa.

O óxido de grafeno (GO) apresenta propriedades únicas decorrentes de sua estrutura bidimensional, elevada área superficial e presença de grupos funcionais oxigenados, que favorecem interações diretas com a membrana celular de microrganismos. Estudos demonstram que sua ação antifúngica está associada a danos mecânicos na parede celular (efeito “nano-lâmina”), geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e interrupção de vias metabólicas essenciais, levando à morte celular (ZHANG *et al*., 2023; WANG *et al*., 2022; EVSEEV *et al.,* 2024; NADERI-NABI *et al*., 2025). Além disso, sua capacidade de inibir a formação e maturação de biofilmes reforça seu potencial como modificador de superfícies biomédicas (KHAN *et al.,* 2025).

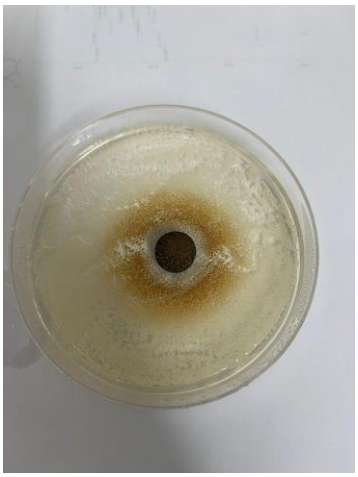
Outro aspecto relevante refere-se à estabilidade do revestimento contendo grafeno em longo prazo e à possível liberação iônica da liga CuAlNi. Em ambientes biológicos, especialmente na cavidade oral, a exposição contínua à umidade, variações de pH e presença de enzimas pode influenciar a integridade do revestimento e a durabilidade de suas propriedades antimicrobianas. A eventual liberação de íons metálicos, como cobre, pode contribuir para a atividade antimicrobiana, mas também levanta questões relacionadas à citotoxicidade e à biocompatibilidade do material (LIU *et al.,* 2024; SAEDI *et al.,* 2024).

No contexto odontológico, o comportamento do material em meio salivar deve ser considerado, uma vez que a saliva exerce papel determinante na formação de película adquirida, na adesão microbiana e na dinâmica dos biofilmes. Propriedades como rugosidade superficial e ângulo de contato influenciam diretamente a molhabilidade e a interação inicial com proteínas e microrganismos. Superfícies mais lisas e com menor energia livre tendem a dificultar a adesão microbiana, enquanto modificações com grafeno podem alterar essas características, favorecendo um perfil mais hidrofóbico ou hidrofílico conforme sua funcionalização (GUNGORDU ER *et al*., 2023; MARTUCI *et al.,* 2025)

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Os achados deste estudo sugerem que a incorporação de grafeno à liga CuAlNi pode contribuir para reduzir a adesão e a organização do biofilme de *Candida albicans*. Essa interpretação está de acordo com a literatura que descreve o grafeno e seus derivados como modificadores de superfície com potencial antimicrobiano e antibiofilme (LIU *et al*., 2024; MARTUCI *et al.,* 2025; GUNGORDU ER *et al*., 2023).

Figura 2. Formação de biofilme em liga CuAlNi sem grafeno. Observa-se maior densidade e distribuição mais homogênea do biofilme, indicando maior colonização microbiana



Embora o mecanismo de ação não tenha sido diretamente investigado neste trabalho, estudos prévios apontam hipóteses como interação físico-química com a parede celular, alteração de propriedades superficiais do material e possível participação de espécies reativas de oxigênio. No presente manuscrito, tais mecanismos devem ser entendidos como possibilidades baseadas na literatura, e não como demonstrações experimentais próprias (ZHANG *et al*., 2023; WANG *et al*., 2022; EVSEEV *et al*., 2024; NADERI-NABI *et al.,* 2025).

Do ponto de vista aplicado, a redução qualitativa da colonização fúngica sugere relevância potencial para biomateriais odontológicos sujeitos à formação de biofilme, como componentes protéticos e superfícies metálicas expostas ao meio bucal. Ainda assim, a interpretação deve ser feita com cautela, uma vez que o ensaio adotado teve natureza preliminar e predominantemente descritiva (SILVA *et al.,* 2022).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Dessa forma, recomenda-se que investigações subsequentes incorporem quantificação padronizada da área de biofilme, comparação com controles adequados, avaliação de rugosidade e energia de superfície, ensaios de citotoxicidade por linhagens celulares relevantes e, posteriormente, validação em modelos *in vivo*.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A liga CuAlNi modificada com grafeno apresentou, nas condições deste estudo *in vitro*, comportamento qualitativo compatível com efeito antibiofilme frente à *Candida albicans*, evidenciado por menor densidade aparente e menor dispersão do biofilme em comparação com a liga sem grafeno.

Os resultados devem ser interpretados como preliminares, mas apontam potencial do grafeno como modificador de superfície para biomateriais odontológicos. A confirmação desse potencial depende de estudos adicionais com delineamento quantitativo, controles apropriados e avaliação direta de biocompatibilidade.

DECLARAÇÕES

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Aspectos éticos: Por se tratar de estudo *in vitro*, sem envolvimento de seres humanos ou animais, não houve submissão a comitê de ética em pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi desenvolvido com o apoio do Laboratório de Microbiologia e Cultura Celular da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), cuja infraestrutura e suporte técnico foram fundamentais para a execução das análises experimentais. Os autores agradecem à equipe técnica pelo auxílio na condução dos ensaios microbiológicos, preparo das amostras e acompanhamento das etapas laboratoriais.

REFERÊNCIAS

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antifungal susceptibility testing. CLSI M44, 2023.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

EVSEEV, Z. I. et al. Antimicrobial properties of graphene oxide. International Journal of Molecular Sciences, v. 25, p. 5328, 2024.

GUNGORDU ER, S. et al. Graphene-based nanocomposites for healthcare applications. Advanced Healthcare Materials, 2023.

HU, W. et al. Graphene-based antibacterial paper. ACS Nano, 2010.

KHAN, S. A. et al. Antibiofilm efficacy of a green graphene oxide-silver nanocomposite. Sustainable Materials and Technologies, 2025.

KIM, J. et al. Biocompatibility and cytotoxicity of graphene-based nanomaterials. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2025.

LIU, Y. et al. Graphene-based materials for biomedical applications: recent advances. Biomaterials Advances, 2024.

MARTUCI, R. et al. Antimicrobial effect of graphene in dentistry. Materials, 2025.

NADERI-NABI, B. et al. Nano-graphene oxide as an antifungal agent. Journal of Fungal Research, 2025.

SAEDI, M. et al. Graphene oxide nanoparticles antimicrobial activity. Journal of Applied Polymer Science, 2024.

SILVA, A. et al. Candida albicans biofilm formation and clinical implications. Journal of Fungal Biology, 2022.

WANG, L. et al. Antimicrobial mechanisms of graphene derivatives. Nano Today, 2022.

ZHANG, X. et al. Antifungal activity of graphene oxide nanomaterials. Materials Science & Engineering C, 2023.

Digitally signed by RECIMA21 REVISTA CIENTIFICA MULTIDISCIPLINAR LTDA:40166538000195.
Timestamp: 2026-04-23 14:05:28 -03.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.