



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS/UAEMa



ANDERSON DE ALMEIDA PEREIRA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE TECIDOS DE ALGODÃO
IMPREGNADOS COM QUITOSANA, VISANDO SUA UTILIZAÇÃO EM ROUPAS
HOSPITALARES**

Campina Grande

2014

ANDERSON DE ALMEIDA PEREIRA

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE TECIDOS DE ALGODÃO
IMPREGNADOS COM QUITOSANA, VISANDO SUA UTILIZAÇÃO EM ROUPAS
HOSPITALARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Área de concentração: polímeros como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Gelmires de Araújo Neves

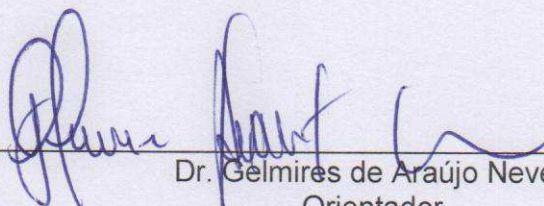
Campina Grande

2014

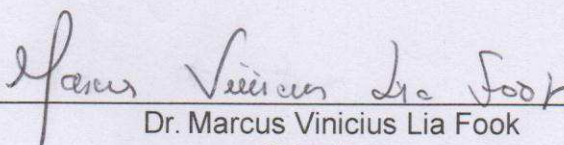
**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E BIOLÓGICA DE TECIDOS DE ALGODÃO
IMPREGANDOS COM QUITOSANA, VISANDO SUA UTILIZAÇÃO EM ROUPAS
HOSPITALARES**

ANDERSON DA ALMEIDA PEREIRA

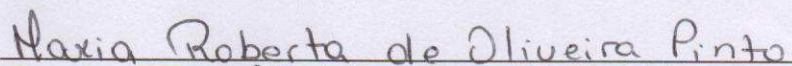
Dissertação Aprovada em 27/10/2014 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:



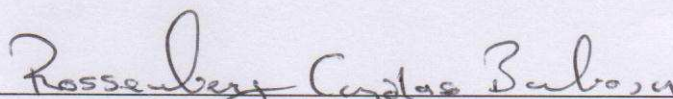
Dr. Gelmires de Araújo Neves
Orientador
PPG-CEMat/UAEM/UFCG



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UAEM/UFCG



Dr.ª Maria Roberta de Oliveira Pinto
Examinadora Externa
UEPB



Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa
Examinador Externo
Pesquisador/UFCG

À Deus e a todas as pessoas que
contribuíram direta ou indiretamente, para
a realização deste trabalho. Dedico.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, pelas suas bênçãos e paz espiritual, possibilitando que esse sonho de concluir o curso se concretizasse.

Aos meus pais **José Gomes Pereira** e **Maria Elza de Almeida Pereira** pelo amor, carinho e atenção que sempre me proporcionaram.

À minha família, minha esposa **Laudicéia Maria Oliveira**, meus filhos **Patrick Oliveira Pereira** e **Cecília Oliveira Pereira** pelo amor, carinho, suporte e compreensão da necessidade de dedicação aos estudos e trabalhos do Mestrado.

Ao Prof. Dr. **Marcus Vinícius Lia Fook** pelo incentivo e orientações para o desenvolvimento dos trabalhos do Mestrado.

Ao orientador **Prof. Dr. Gelmires de Araújo Neves**.

Aos meus amigos **Thibério Mundim Ferreira Pires** e **Márcio Luiz Varani**, por terem incentivado a iniciar o mestrado.

Ao meu amigo mestre e doutorando **Wladymyr Jefferson Bacalhau de Sousa** por toda orientação, apoio e empenho fornecido que muito contribuiu para a conclusão deste trabalho.

Ao meu amigo Prof. Dr. **Rossemberg Cardoso Barbosa** que muito me orientou na direção seguida e nas discussões para o desenvolvimento deste trabalho.

À **Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA** por ter proporcionado e possibilitado a minha participação nas atividades do mestrado.

Ao **corpo docente** de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG.

Aos funcionários de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

À todos que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

“Dê ao mundo o melhor de você. Mas isso pode não ser o bastante. Dê o melhor assim mesmo. Veja você que, no final das contas, é tudo entre você e Deus. Nunca foi entre você e os outros”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

Sabe-se que os profissionais da saúde e pacientes são alvos de contaminações e infecções hospitalares, suas roupas hospitalares podem carrear agentes patológicos causadores de infecções. Estudos recentes apresentaram resultados satisfatórios quanto à ação antimicrobiana proporcionada pela impregnação da quitosana em tecidos de algodão utilizados na fabricação de roupas hospitalares. Este trabalho teve como objetivo realizar uma avaliação físico-química e biológica das amostras de tecido de algodão impregnados com quitosana (concentrações de 1% e 2%), de forma a verificar a ação antimicrobiana conferida pela aplicação de quitosana, bem como avaliar, se após ciclos de lavagem, as amostras de tecidos impregnados mantiveram as suas características físico químicas iniciais. Para verificar se ocorreu impregnação adequada da quitosana e se houve desprendimento/perda da quitosana após as etapas de lavagem e secagem realizadas, as amostras foram caracterizadas por Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS). Para avaliação da atividade antimicrobiana foram realizados ensaios de Screening (disco de difusão), de Pour-Plate e de Microdiluição seguindo as metodologias do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). As técnicas de DRX, FTIR, MEV/EDS e Intumescimento indicaram que as amostras de tecido ficaram impregnadas com quitosana nas concentrações de 1% e 2% e que houve desprendimento/perda parcial da impregnação da quitosana durante os processos de lavagem e secagem. A técnica de FTIR demonstrou os grupos funcionais característicos do algodão, da quitosana e indicou uma interação mais significativa da impregnação da quitosana a 2%. Os resultados microbiológicos realizados indicaram que a quitosana possui atividade antimicrobiana e que as amostras de tecido impregnadas, inibiram o crescimento dos microorganismos na superfície dos tecidos. Com estes resultados, vislumbra-se impregnar quitosana em tecido SMS a fim de criar aventais cirúrgicos antimicrobianos descartáveis (somente uso único).

Palavras - chave: Quitosana. Antimicrobiana. Roupas. Hospitalar. Infecção.

ABSTRACT

It is known that health professionals and patients are the target of contamination and hospital acquired infections, and their hospital clothing can carry pathologic agents responsible for causing these infections. Recent studies have shown satisfactory results related to an antimicrobial activity provided by impregnation of chitosan in cotton fabrics used to make hospital clothing. This work has been done with the goal of perform a physio-chemical and biological evaluation of the samples impregnated with chitosan (concentration of 1% and 2%), to verify an antimicrobial activity provided by chitosan application, as well as, to evaluate, if after washing cycles, the samples of impregnated fabrics were able to maintain their inicial physio-chemical characteristics. To verify if adequate impregnation of chitosan occurred, and if there had been loss of chitosan after the washing and drying steps, the samples were characterized by X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Optical Microscopy (OM), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS). To evaluate the antimicrobial activity, Screening tests (diffusion disks), Pour-Plate and Microdilution were performed following the methods of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). The techniques of XRD, FTIR, SEM/EDS and Swelling test indicated that samples of cotton fabrics were impregnated with chitosan in concentrations of 1% and 2% and there was partial loss of impregnated chitosan during washing and drying processes. The technique FTIR showed the characteristic functional groups of cotton, chitosan, and indicated a significant impregnation of 2% chitosan. The microbiological results indicated that chitosan has antimicrobial activity and that the impregnated fabric samples inhibited growth of microorganisms on the fabrics surface. With these results, one glimpses to using chitosan on SMS fabric to create a disposable antimicrobial surgical clothing. (single use only).

Keywords: Chitosan. Antimicrobial. Hospital Clothing. Infection

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Representação esquemática da estrutura química da celulose.	23
Figura 2 – Representação esquemática da obtenção da quitosana.....	24
Figura 3 – Estrutura química da quitina e da quitosana.	25
Figura 4 – Estrutura química da quitosana (a) e aspecto visual da mesma (b).....	29
Figura 5 - Aspecto visual do tecido tipo T3, sarja 100% algodão, gramatura 208g/m ² , fornecedor: Brintex Ltda.....	30
Figura 6 – Fluxograma de preparação das amostras.....	32
Figura 7 - Difratogramas: Algodão; Alg./1%Quit/Sn; Alg./1%Quit/3L; Alg./1%Quit/5L; Quitosana. Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem)	40
Figura 8 - Difratogramas: Algodão; Alg./2%Quit/Sn; Alg./2%Quit/3L; Alg./2%Quit/5L; Quitosana. Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem)	41
Figura 9 – Espectros FTIR: Algodão; Alg./1%Quit/Sn; Alg./1%Quit/3L; Alg./1%Quit/; Quitosana (pó de quitosana) isolada. Onde: Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem).....	42
Figura 10 – Espectros FTIR: Algodão; Alg./2%Quit/Sn; Alg./2%Quit/3L; Alg./2%Quit/5L; Quitosana (pó de quitosana). Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e e secagem).....	43
Figura 11 - Espectros da Quitosana.....	44
Figura 12 - Microscopia ótica (aumento 100x): (a) Algodão(Alg); (b) Alg + 1% Quitosana(Quit) sem lavagem(Sn); (c) Alg + 1% Quit + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem); (d) Alg + 1% Quita + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem); (e) Alg + 2% Quit. (Sn); (f) Alg + 2% Quit + 3L; (g) Alg + 2% Quit + 5L;	46
Figura 13 - Micrografias do tecido de algodão: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x.	47
Figura 14 - EDS tecido de algodão.	48
Figura 15 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x.....	49
Figura 16 - EDS tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem.	49

Figura 17 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x	51
Figura 18 - EDS tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem).	51
Figura 19 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x	53
Figura 20 - EDS tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem).	53
Figura 21 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x.....	55
Figura 22 - EDS tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem.	55
Figura 23 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x	56
Figura 24 - EDS tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem).	57
Figura 25 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x	58
Figura 26 - EDS tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem).	58
Figura 27 – Resultado do ensaio: Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana da solução de quitosana e dos tecidos de algodão + quitosana 1% e 2% frente a cepa <i>S. aureus</i> ATCC 25923.	61
Figura 28 – Resultado do ensaio: Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana dos discos com solução de quitosana 1% e 2% e das amostras de tecidos de algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); frente a cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC (25922).....	63

Figura 29 – Resultado do ensaio de atividade antimicrobiana de tecidos: (a) algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC (25922); (b) algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC (25922).	65
Figura 30 – Resultado do ensaio de atividade antimicrobiana de tecidos: (a) algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC (27853) ; (b) algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC (27853).	65
Figura 31 – Resultados dos ensaios de Microdiluição com solução de Quitosana, onde: Sa = <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC (25923), Ec = <i>Escherichia coli</i> ATCC (25922), Pa = <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC (27853) e Ca = <i>Candida albicans</i> ATCC (76645).	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Padronização dos Tecidos para Uso Hospitalar – Norma ABNT NBR 13734:1996.	21
Tabela 2 – Aplicações da quitosana por área.	27
Tabela 3 - Bandas de absorção no FTIR dos filmes de quitosana com GD de 75% – 85%.....	45
Tabela 4 - Bandas de absorção no FTIR para fibra de algodão sem modificação.	45
Tabela 5 - Identificação e composição química do tecido de algodão realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).	48
Tabela 6 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem, realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS). .	50
Tabela 7 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).	52
Tabela 8 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).	54
Tabela 9 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem, realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS). .	56
Tabela 10 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).	57
Tabela 11 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).	59
Tabela 12 – Grau de intumescimento, onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), e L (ciclo de lavagem e secagem).....	60
Tabela 13 – Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana da solução de quitosana.....	62
Tabela 14 – Atividade antimicrobiana de Quitosana por microdiluição em placa..	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Alg.	Tecido de Algodão
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
°C	Grau Celsius
CERTIBIO	Laboratório de Certificação e Desenvolvimento de Biomateriais
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Centímetro
DRX	Difração de Raios X
EDS	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FTIR	Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier
GD	Grau de desacetilação
h	Hora
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência em Saúde
I	Grau de Intumescimento
ISO	International Standard Organization
KV	Kilovolt
mA	miliAmpére
M	Molar
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MM	Massa Molar
MO	Microscopia Óptica
m/v	Relação massa/volume
NBR	Norma Brasileira
OMS	Organização Mundial da Saúde
PPG- CEMAT	Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais
MPa	Mega Pascal
Quit.	Quitosana
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA
UAema	Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais

UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
v/v	Relação volume/volume
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

O	Oxigênio
C	Carbono
H	Hidrogênio
N	Nitrogênio
HCl	Ácido clorídrico
NaOH	Hidróxido de sódio
OH	Hidroxila
NH	Amina
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
θ	Theta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1	INFECÇÕES HOSPITALARES	20
3.2	ROUPAS HOSPITALARES ANTIMICROBIANAS	20
3.2.1	Norma técnica aplicável a Roupas Hospitalares	21
3.3	ALGODÃO	22
3.4	QUITOSANA	23
3.4.1	Propriedades e aplicações da Quitosana	25
3.5	REGULAMENTAÇÃO SANITÁRIA	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	LOCAL DA PESQUISA	29
4.2	MATERIAIS	29
4.3	MÉTODO	30
4.3.1	Preparação das Amostras de Tecidos de Algodão	30
4.3.2	Preparação das Soluções de Quitosana	31
4.3.3	Preparação das Amostras de Ensaio	31
4.4	CARACTERIZAÇÃO	32
4.4.1	Difração de raios X (DRX):	33
4.4.2	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	33
4.4.3	Microscopia Ótica (MO)	33
4.4.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)/ Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)	34
4.4.5	Intumescimento	34
4.4.6	Avaliação da Atividade Antimicrobiana	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	OBSERVAÇÕES GERAIS	39
5.2	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	39

5.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	42
5.4 MICROSCOPIA ÓTICA (MO)	46
5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) e ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS).....	47
5.6 INTUMESCIMENTO	59
5.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	61
5.7.1 Determinação da atividade antimicrobiana – Screening (disco difusão) de atividade antimicrobiana.....	61
5.7.2 Determinação de atividade antimicrobiana de tecidos impregnados com Quitosana (por pour-plate)	64
5.7.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) - (Microdiluição).....	66
6 CONCLUSÕES	68
7 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	70
REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a “Infecção Hospitalar” é um grande problema constantemente combatido pelas Comissões de Combate e Controle de Infecções Hospitalares dos Estabelecimentos Assistenciais de Saúde Brasileiros e Internacionais. (DE ANDRADE; ANGERAMI 1999)

Sabe-se que as equipes médicas e pacientes são alvos de contaminações e infecções hospitalares, e que suas vestimentas podem carrear agentes nocivos causadores de infecções. (KONKEWICZ, 2008)

A Norma técnica ABNT NBR 13734:1996 – Roupas hospitalares – Características, fixa as características de fabricação de tecidos hospitalares e padroniza as dimensões dos artigos obtidos a partir deles, bem como indica o tipo mais adequado e recomendado para confecção de roupas hospitalares. Estes tecidos, normalmente fabricados em algodão, são passíveis de contaminação microbiana por estarem em contato direto com agentes infecciosos nos ambientes hospitalares, bem como são fontes carreadoras de infecção hospitalar em geral.

Estudo recente referente à ação antimicrobiana proporcionada pela impregnação com quitosana em tecidos de algodão e seda utilizados na fabricação de roupas hospitalares apresentou resultados satisfatórios e eficazes contra o microorganismo *Escherichia Coli*. (PERIOLATTO et al., 2012).

As roupas hospitalares utilizadas pelas equipes médicas são consideradas e classificadas como EPI (Equipamento de Proteção Individual) e estão sujeitas à cadastramento junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.

Visando aproveitar a potencialidade do polímero natural quitosana e principalmente sua propriedade antimicrobiana, este estudo avaliou as características físico químicas e biológicas de tecidos de algodão utilizados na fabricação de roupas hospitalares impregnadas com quitosana.

A relevância da impregnação de roupas hospitalares com quitosana se dá pelas diversas características até então conhecidas da mesma, e principalmente, por ter ação antibacteriana. Outro fator importante é que a quitosana tem despertado o interesse dos pesquisadores nos últimos anos e seu uso têm tido grande atenção devido aos fatores ecológicos, por serem de fontes renováveis.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar avaliação físico-química e biológica de tecidos de algodão impregnados com quitosana, visando sua utilização em roupas hospitalares, de forma a conferir, principalmente, a ação antimicrobiana desejável ao combate à infecções hospitalares.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver metodologia para impregnar quitosana (em duas diferentes concentrações de 1% e 2%) às amostras de tecidos de algodão utilizados em roupas hospitalares;
- Impregnar as amostras de tecido de algodão com quitosana seguindo a metodologia previamente estabelecida;
- Avaliar as características físico-químicas e biológicas (atividade antimicrobiana) das amostras de tecido sem e com impregnação de quitosana;
- Avaliar as amostras de tecido impregnados com quitosana mantiveram as suas características físico-químicas iniciais após os ciclos de lavagem;

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 INFECÇÕES HOSPITALARES

As infecções relacionadas à assistência em saúde (IRAS) são aquelas adquiridas durante a prestação dos cuidados de saúde e representam um dos mais importantes problemas de saúde pública no mundo. A Organização Mundial de Saúde (OMS), com base em dados recentes, considera que 1,4 milhão de infecções ocorre a qualquer momento, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Nos Estados Unidos, estima-se que cerca de 2 milhões de infecções relacionadas à assistência em saúde ocorram anualmente, resultando entre 60 e 90 mil mortes e com um custo aproximado de, pelo menos, 17 a 29 bilhões de dólares. Em média, de 5% a 15% de todos os pacientes internados desenvolvem IRAS. No Brasil, não se dispõe de estimativas precisas em razão da ausência de sistematização de informações (WHO - World Health Organization 2009).

Estudos evidenciam a contaminação da roupa, capotes e jalecos dos profissionais de saúde por *Staphylococcus aureus*, principalmente na região da cintura, punhos e bolsos, inclusive por cepas resistentes à metilina (MRSA). A utilização de jalecos fora do ambiente hospitalar foi justificada pelos profissionais de um estudo como uso por profissionalismo, reconhecimento e, ainda, para guardar objetos (TREAKLE et al., 2009).

3.2 ROUPAS HOSPITALARES ANTIMICROBIANAS

Nos últimos anos a investigação têxtil tem-se focado no desenvolvimento de materiais têxteis multifuncionais para as mais diversas áreas. Incluem-se nestes novos produtos os materiais têxteis antimicrobianos. No entanto, estes diferem entre si em termos de atividade biológica, desempenho e durabilidade de ação. Na realidade, um dos objetivos da produção destes materiais é a obtenção de produtos com ação antimicrobiana duradoura, seguros e com um largo espectro de ação (VIEIRA, 2006).

Estudos e publicações indicam que a propriedade antimicrobiana das roupas hospitalares pode ser conferida pela utilização (impregnação/revestimento) de agentes como: íons de prata, glicidilpropiltrimetoxissilano, brometo de N - dodecil-DABCO, dióxido de titânio, copolímeros (N-alkil e benzofenona contendo polietileniminas), dentre outros.

Estudo recente referente à ação antimicrobiana proporcionada pela impregnação com Quitosana em tecidos de algodão e seda utilizados na fabricação de roupas hospitalares apresentou resultados satisfatórios e eficazes contra o microorganismo Escherichia Coli (PERIOLATTO et al., 2012).

3.2.1 Norma técnica aplicável a Roupas Hospitalares

A Norma técnica ABNT NBR 13734:1996 – Roupas Hospitalares – Características, estabelece as características de fabricação de tecidos hospitalares e padroniza as dimensões dos artigos obtidos a partir deles, bem como indica o tipo mais adequado e recomendado para confecção de roupas hospitalares.

Na Tabela 1 encontra-se a padronização dos tecidos para uso hospitalar definida pela Norma Técnica ABNT NBR 13734:1996:

Tabela 1 – Padronização dos Tecidos para Uso Hospitalar – Norma ABNT NBR 13734:1996.

Tecido		T1	T2	T3	T4	T5	T6	T6	T6 (c)	T7
Composição		100% CO	100% CO	100% CO	100% CO	(b)	50 CO/ 50 PE S (d)	100% CO	100% CO	100% CO
Padronização		Tela	Felpa dupla (a)	Sarja 02/jan	Sarja 03/jan	Sarja 3/1 Dupla face	Tela	Tela	Tela	Jacquard e/ou maquietação
Gramatura (g/m2)		140	Até 300 301 – 400 > 400	179-190 191-209 210-230	297 325	400 110	1109	119	119	320
Numero de fios / cm2	Urdume	23	14	40	40	16	30	29	29	23
	Trama	23	12	17	17	14	20	20	20	17
	Felpa		14							
Variação dimensional (%)	Urdume	5	7	3	3	10	4	9	2	12
	Trama	3	10	2,5	2,5	10	3	4	3,5	6
Solidez a lavagem	Alteração	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai
	Transferência	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai
Solidez ao hipoclorito	Alteração	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai
	Transferência	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai	04/mai
Resistência a tração (daN/cm)	Urdume	8	7	15	15	5	8	8	8	4
	Trama	7	6	9	12	5	6,5	5	5	4

Fonte: ABNT NBR 13734:1996

Onde:

(a) Felpa dupla com três tramas 2x2

(b) Composição : urdume : algodão

Trama : poliacrilonitrilo (acrílico ou polipropileno ou misturas variadas)

(c) Tecido pré-encolhido

(d) CO - algodão

PES - poliéster

Notas:

(a) Variação dimensional, os valores expressos são máximos.

(b) Tecido T2 – os felpudos devem conter na base (estrutura) no mínimo 90% de algodão. A felpa deve ser composta de fibras 100% algodão.

(c) Tecido T6 – o tecido de composição 50CO/50PES deve ser composto em mistura íntima

3.3 ALGODÃO

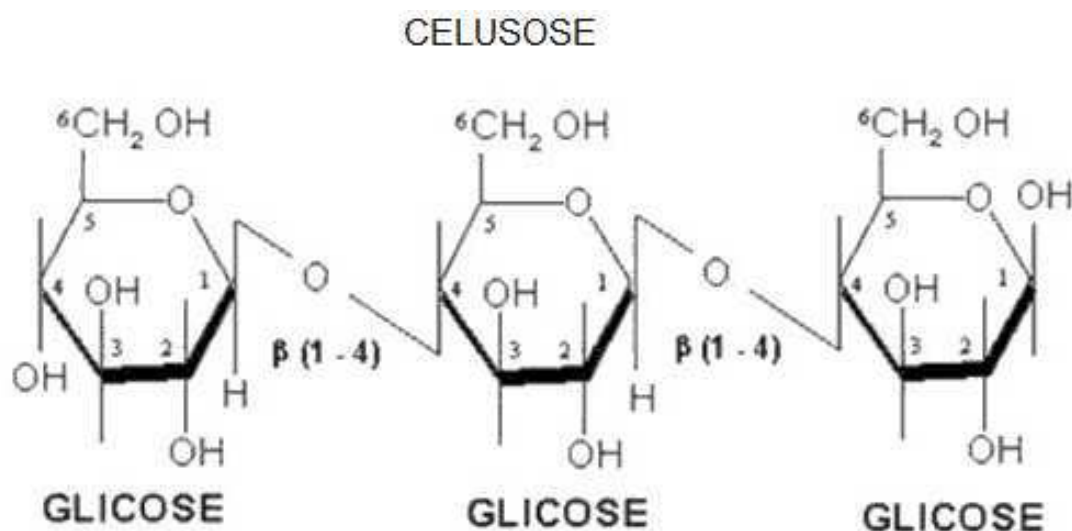
O algodão é uma fibra branca ou esbranquiçada obtida dos frutos de algumas espécies do gênero *Gossypium hirsutum* L. e é considerado a mais importante das fibras têxteis. Normalmente é constituída em cerca de 90 a 93 % de celulose, sendo a maior parte restante constituída por ceras, gorduras ou minerais (SONESSO, 2011).

A celulose de algodão possui cadeias mais ordenadas, apresentando cristalinidade de aproximadamente 70%, enquanto a celulose de árvores apresenta índice de cristalinidade ao redor de 40% (SILVA, et al. 2009).

A celulose é o material orgânico mais abundante na terra, com uma produção anual de mais de 50 bilhões de toneladas. É um polímero de cadeia longa de peso molecular variável, com fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, com um valor mínimo de $n = 200$ (tipicamente 300 a 700, podendo passar de 7000). A unidade repetitiva da celulose é composta pela união de duas moléculas de glicose através de ligações β -1,4- glicosídicas. Esta unidade repetitiva, conhecida como celubiose, tem uma estrutura linear ou fibrosa na qual contém seis grupos

hidroxila que estabelecem interações do tipo ligações de hidrogênio intra e intermolecular conforme apresentado na Figura 1 (SILVA et al., 2009).

Figura 1 – Representação esquemática da estrutura química da celulose.



Fonte: Silva et al., 2009

A celulose constitui o principal material de sustentação das plantas terrestres, possuindo também importância industrial, servindo de matéria-prima para indústrias têxtil e de papel, dentre inúmeras outras. Fibras longas de celulose podem ser extraídas de certas plantas com tratamento de purificação relativamente simples, sendo o algodão a principal entre estas fibras (SONESSO, 2011).

Na indústria química a celulose (polpa ou algodão) costuma ser dissolvida e posteriormente precipitada na forma desejada. Fabricada a partir da celulose, a fibra celulósica é constituída por celulose regenerada ou por um derivado da celulose (SONESSO, 2011).

3.4 QUITOSANA

A quitosana é um polímero natural, atóxico, de baixo custo, renovável, biodegradável e de grande importância econômica e ambiental (AZEVEDO et al., 2007).

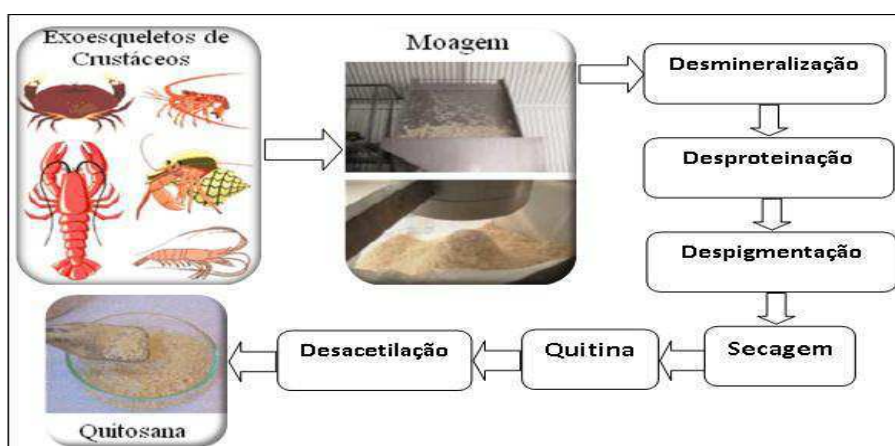
A quitosana é obtida pela desacetilação parcial da quitina, sendo seu mais importante derivado, cuja estrutura primária é idêntica à da quitina a não ser pelo fato que em quitosana predominam as unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose. O termo quitosana abrange o conjunto de copolímeros que contém ao menos 50-60% de unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose (ABRAM; HIGUERA, 2004).

A quitina tem sua separação de outros componentes da carapaça, através da desmineralização e desproteíntização com soluções diluídas de HCl e NaOH, seguida de despigmentação (descoloração). A quitina obtida é posteriormente desacetilada com solução concentrada de NaOH, produzindo dessa forma a quitosana (AZEVEDO et al., 2007).

A quitina (termo derivado da palavra grega khitón – que significa carapaça, casca ou caixa de revestimento) é a principal fonte de matéria-prima da quitosana, e é encontrada principalmente no exoesqueleto de crustáceos, como caranguejos e camarões (BRAGA, 2005; AZEVEDO, 2007; SPIN-NETO et al., 2008).

Na Figura 2 observa-se uma representação esquemática das etapas de obtenção da quitosana.

Figura 2 – Representação esquemática da obtenção da quitosana.

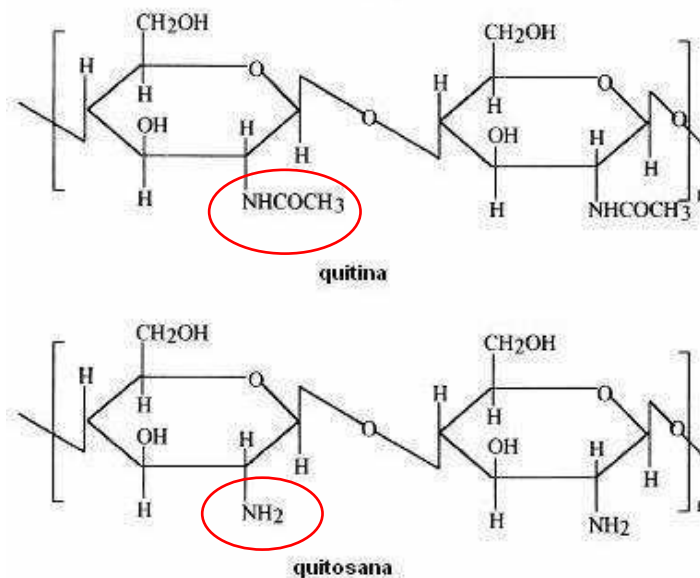


Fonte: MELO, (2010)

A quitina é um polissacarídeo encontrado na natureza em grande escala, pois é a segunda substância orgânica mais abundante na biosfera, sendo superada apenas pela celulose (ABRAM; HIGUERA, 2004; ROBERTS, 1992).

As estruturas moleculares da quitina e da quitosana estão apresentadas na Figura 3.

Figura 3 – Estrutura química da quitina e da quitosana.



Fonte: KUMAR, (2000)

3.4.1 Propriedades e aplicações da Quitosana

A quitosana apresenta propriedade antimicrobiana conferida pelo recobrimento das roupas de algodão e seda com a mistura quitosana (2% w) dissolvida em ácido acético (2% v/v) em meio aquoso e aditivada com 2-hidroxy-2-methylphenylpropane-1 (2% w/w with respect to chitosan) (PERIOLATTO et al., 2012).

Muitas pesquisas e experimentos in vivo e in vitro tem sido realizados visando investigar a quitosana (sob forma de soluções, filmes e compósitos) como agente antimicrobiano contra uma ampla gama de microorganismos alvo, tais como bactérias, leveduras e fungos. Geralmente nestes estudos a quitosana tem sido considerada como sendo bactericida (mata as bactérias ou fração delas) ou bacteriostática (impede o crescimento e multiplicação das bactérias), frequentemente sem distinção entre estas atividades.

Dados recentes da literatura caracterizam a quitosana como sendo mais bacteriostática do que bactericida (COMA et al., 2002).

Apesar do mecanismo exato da ação antimicrobiana da quitosana ainda não ser totalmente entendido, três modelos de mecanismos de ação antimicrobiana tem sido propostos: a) Interação iônica da quitosana com a superfície da bactéria, resultando no rompimento da membrana celular e posterior vazamento e morte celular; b) Inibição da atividade celular (síntese proteica e RNA) através da penetração da quitosana no núcleo celular do microorganismo; c) Formação de barreira externa bloqueando e provocando a supressão de nutrientes essenciais para o crescimento celular da bactéria (GOY et al., 2009).

Dos três modelos, o mais aceitável é interação das cargas positivas das moléculas da quitosana com as cargas negativas da membrana microbiana. Neste modelo a interação é mediada pelas forças eletrostáticas entre o grupo protonado NH_3^+ e os resíduos carregados negativamente, presumivelmente competindo com os íons Ca^{2+} pelos locais eletronegativos na superfície da membrana celular (RABEA et al., 2003).

Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos (ROBERTS, 1992).

Quanto às propriedades mecânicas (módulo de elasticidade, resistência à tração e alongamento na ruptura) a quitosana apresenta os seguintes valores: módulo de elasticidade de 600 MPa a 2900 MPa; resistência à tração de 6 MPa a 75 MPa e alongamento na ruptura de: 3% a 90%. Com relação ao grau de intumescimento a literatura revela valor de 200%. Estas propriedades juntamente com a viscosidade e as propriedades mecânicas são diretamente influenciadas pelo seu grau de desacetilação (GD) e pela sua massa molar (MM) (CAMPOS, 2007; CANELLA et al., 2000).

São inúmeras as aplicações da quitosana já conhecidas. Na Tabela 2 são apresentadas as suas principais aplicações.

Tabela 2 – Aplicações da quitosana por área.

Área	Aplicações
Biomédica	Biomembranas artificiais e sutura cirúrgica
Farmacêutica	Agente cicatrizante, aditivo de medicamentos e liberação controlada de drogas
Oftalmológica	Lentes de contato
Cosmética	Umectante, fungicida e bactericida
Indústria de Alimentos	Aditivos alimentares e embalagem biodegradável
Agricultura	Fertilizantes, liberação controlada de agroquímicos e defensivos agrícola
Biotecnologia	Imobilização de enzimas e de células, separação de proteínas e cromatografia
Indústria Têxtil e de Papel	Tratamento de superfície
Indústria Fotográfica	Filmes
Tratamento de Efluentes	Remoção de íons metálicos, remoção de corantes, floculante e coagulante
Nanotecnologia	Biossensor para ânions (nanocópito quitosana/argila)

Fonte: KUMAR, 2000; TENG et al., 2001.

As aplicações da quitosana na área médica estão relacionadas essencialmente às suas propriedades de biocompatibilidade, capacidade bactericida e ao fato de não provocar reações adversas quando em contato com células humanas, ou seja, é uma substância segura para o organismo humano (COSTA JÚNIOR, 2008).

3.5 REGULAMENTAÇÃO SANITÁRIA

As roupas cirúrgicas, dentre estas os aventais cirúrgicos utilizados pelas equipes médicas são considerados Produtos para Saúde e estão sujeitos à cadastramento junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.

Assim, este produto só pode ser comercializado após o devido cadastro junto à ANVISA, conforme disposições da Resolução ANVISA RDC nº 24/2009 que Estabelece o âmbito e a forma de aplicação do regime do cadastramento para o controle sanitário dos produtos para saúde (BRASIL, 2009).

O enquadramento sanitário do produto está definido na Resolução ANVISA RDC nº 185/2001 que trata do registro, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos na Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001).

Conforme disposições da Lei 6437/77, comete infração sanitária quem comercializa produtos para saúde sem a devida regularização junto ao Ministério da Saúde, atividade delegada à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 1977).

Para proceder a regularização deste produto junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, o fabricante deve sequencialmente:

- Obter Alvará/Licença Sanitária junto ao Órgão de Vigilância Sanitária do Município ou Estado em que a fábrica será instalada.

- Obter Autorização de Funcionamento da Empresa (A.F.E) junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, seguindo as diretrizes da Resolução ANVISA RDC 16/2014 (BRASIL, 2014).

- Protocolar um processo para cadastro do produto junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA em conformidade com a Resolução ANVISA RDC nº 24/2009. Este processo deverá conter basicamente: Ficha técnica de Cadastro disponível no site www.anvisa.gov.br, contendo as especificações técnicas do produto, identificações da empresa e dos responsáveis técnico e legal; Dossiê técnico, contendo os resultados de todos os testes microbiológicos que comprovem que o avental cirúrgico possui atividade antimicrobiana.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Certificação e Desenvolvimento de Biomateriais – CERTBIO, que está localizado no Bloco CJ3, na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG.

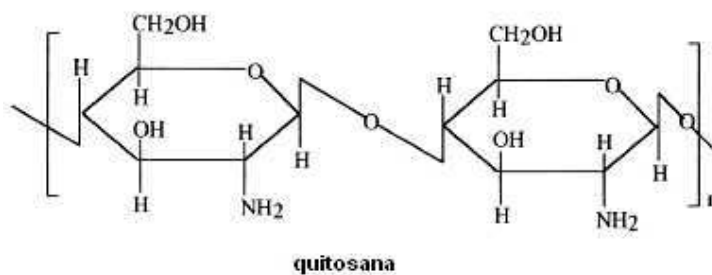
Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

4.2 MATERIAIS

- Quitosana na forma de pó fornecida pela Sigma-Aldrich – de médio peso molecular com grau de desacetilação-GD entre 75 – 85%.

Na Figura 3 são apresentadas a estrutura química da quitosana e o aspecto visual da mesma em pó.

Figura 4 – Estrutura química da quitosana (a) pó de quitosana (b)



(a)



(b)

Fonte: Própria

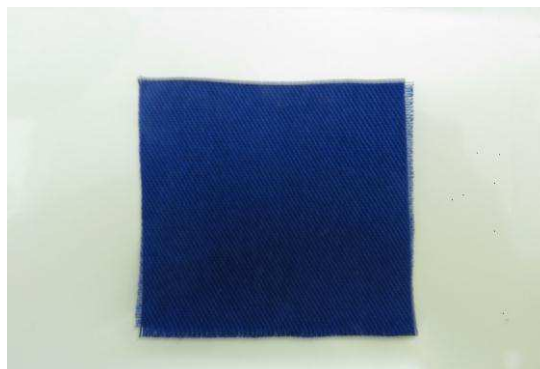
- Ácido acético glacial P.A fornecido pela Vetec.

- Hidróxido de sódio, fornecido pela Vetec.

- Amostras de tecidos de algodão (Tipo T3, sarja 100% algodão, gramatura 208g/m², conforme Norma NBR 13734:1996) fornecido pela indústria Brintex Ltda, localizada em Belo Horizonte. O tecido de algodão Tipo T3, 100% algodão foi escolhido para confecção de amostras por serem comercialmente conhecidos e utilizados para fabricação de roupas hospitalares, principalmente para confecção de roupas cirúrgicas e jalecos para proteção dos profissionais de saúde.

Na Figura 5 observa-se o tecido Tipo T3, sarja 100% algodão, gramatura 208g/m², comercialmente utilizados para fabricação de roupas cirúrgicas.

Figura 5 - Aspecto visual do tecido tipo T3, sarja 100% algodão, gramatura 208g/m², fornecedor: Brintex Ltda.



Fonte: Própria

4.3 MÉTODO

4.3.1 Preparação das Amostras de Tecidos de Algodão

Amostras padrões (seção quadrada de 50 mm x 50 mm) foram recortadas de um tecido de algodão (Tipo T3, sarja, 100% algodão, gramatura 208g/m² - conforme Norma NBR 13734:1996) fornecido por Brintex Ltda, normalmente utilizados para confecção de campos e roupas cirúrgicas para proteção dos profissionais de saúde.

4.3.2 Preparação das Soluções de Quitosana

Soluções de quitosana nas concentrações de 1% e 2% (m/v) foram preparadas a partir da dissolução do biopolímero em solução aquosa de ácido acético a 1% (v/v), empregando agitação mecânica (600 rpm) a 25°C por 24 h.

4.3.3 Preparação das Amostras de Ensaio.

As amostras foram cortadas em um tamanho médio de 5 cm². Posteriormente foram mergulhadas em soluções de 1% e 2% de quitosana e deixadas por uma hora. Em seguida foram retiradas e colocadas para secar em estufa a 40°C por 24 horas.

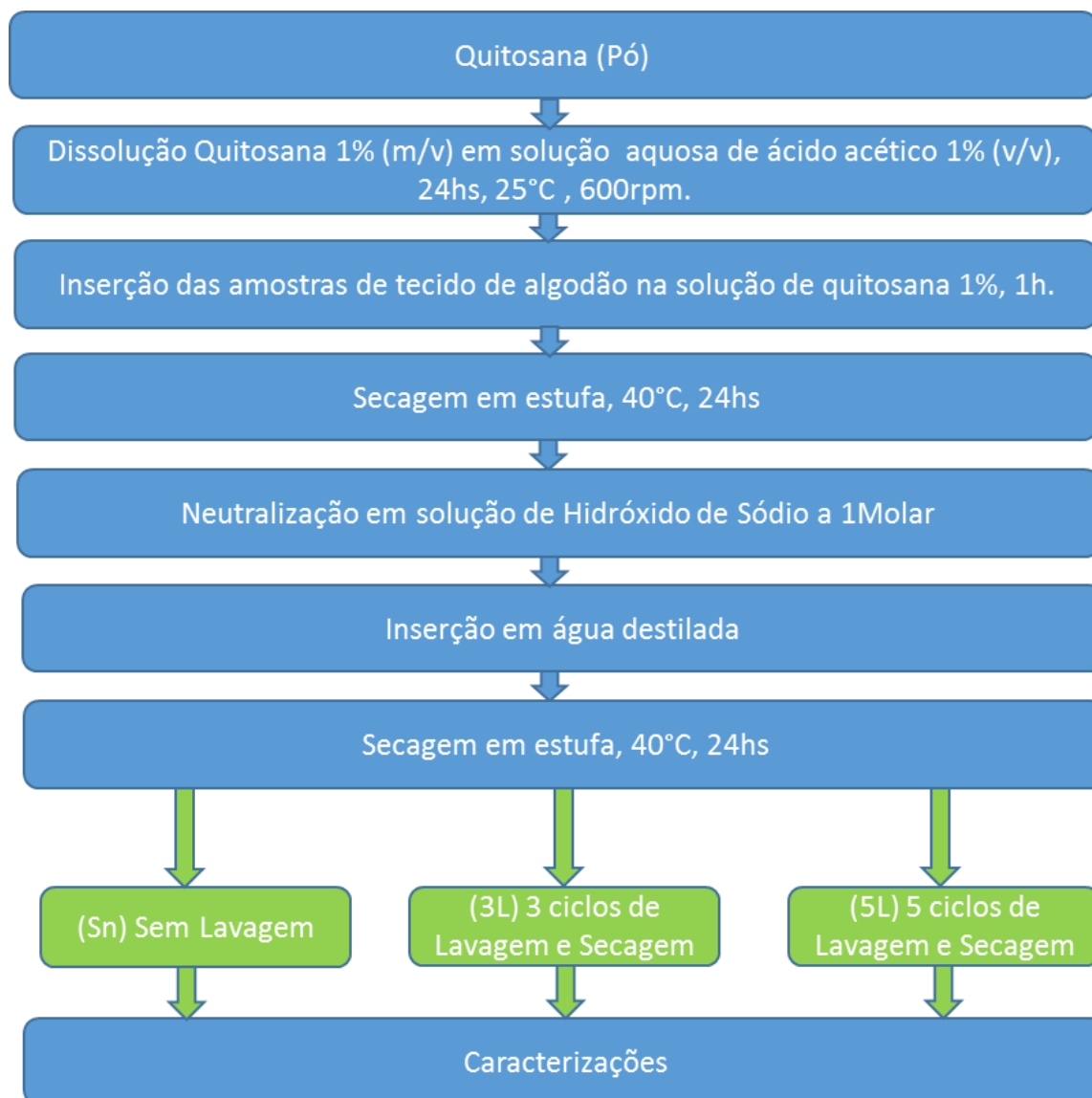
Todas as amostras foram imersas em solução de hidróxido de sódio a 1 M (mol/L) por 1 h para neutralização, lavadas com água destilada para retirada do excesso do hidróxido de sódio, novamente secadas (40° C por 24 h) e armazenadas em recipientes apropriados.

Após a neutralização e secagem as amostras foram submetidas a ciclos (3 e 5) de lavagens e secagens em máquina de lavar e secar roupas e posteriormente foram cortadas em fragmentos menores (1 cm²) e enviadas para caracterização por DRX, FTIR, MO, MEV/EDS, Intumescimento e avaliação da atividade microbiana. Foram caracterizadas amostras sem e com diferentes concentrações e ciclos de lavagens e secagem.

As amostras foram denominadas de: Algodão; Alg./1%Quit/Sn; Alg./1%Quit/3L; Alg./1%Quit/5L; Alg./2%Quit/Sn; Alg./2%Quit/3L; Alg./2%Quit/5L; Quitosana. Onde: Alg. (algodão), Quit (quitosana), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem).

A Figura 6 ilustra o fluxograma da preparação das amostras de tecido impregnadas com quitosana desde o seu processo inicial até a sua caracterização. Neste fluxograma foi detalhado para preparo das amostras com impregnação de quitosana a 1% (m/v). Porém, este fluxograma pode ser aplicado para preparos das amostras com impregnação de quitosana a 2% alterando-se apenas a concentração de quitosana para 2% (m/v).

Figura 6 – Fluxograma de preparação das amostras.



Fonte: Própria

4.4 CARACTERIZAÇÃO

As amostras de tecido de algodão sem impregnação e com impregnação de quitosana nas concentrações de 1% e 2 %, bem como as amostras submetidas aos ciclos de lavagem e secagem foram caracterizadas por Difração de Raios-X (DRX); Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR); Microscopia Ótica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV); Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS); Intumescimento;

Avaliação da atividade antimicrobiana pelas técnicas de Screening (disco difusão), de Pour Plate e de Microdiluição.

4.4.1 Difração de raios X (DRX):

A caracterização por Difração de Raios X teve o objetivo de identificar as fases cristalinas presentes nas amostras (matéria prima), através de análises que foram conduzidas a temperatura ambiente em aparelho da marca Shimadzu modelo 7000 Shimadzu, utilizando-se de radiação $K\alpha$ do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kV e corrente 30mA em um intervalo de 2θ numa varredura entre 5,0 e 50,0 graus a uma velocidade de 2°/min.

4.4.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras foram realizadas em temperatura ambiente e o equipamento utilizado foi o Spectrum 400 do fabricante Perkin Elmer. A técnica FTIR foi utilizada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas matérias primas, utilizando a faixa de varredura de 650 a 4000 cm^{-1} .

4.4.3 Microscopia Ótica (MO)

Para avaliação morfológica e distribuição das partículas de quitosana membrana foi utilizado um microscópio ótico Óptico Hirox com aumento de 100x.

4.4.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)/ Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

Para realização das análises de microscopia eletrônica de varredura foram utilizadas amostras de aproximadamente 0,5 cm². Foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo PHENOM, MEV PROX, fabricante PHENOM WORD, com aumento de 150x, 500x e 1000x sem recobrimento metálico, mesmo em amostras não condutoras. Estes ensaios foram realizados para avaliar se ocorreu a impregnação da quitosana no tecido de algodão.

Para a identificação química do material foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada, PHENOM, MEV PROX, fabricante PHENOM WORD acoplado com sistema para micro análise químico por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

4.4.5 Intumescimento

Antes de iniciar a pesagem das amostras, as mesmas foram colocadas em uma estufa a 37^o C por 4 h. Em seguida foram pesadas em balança analítica marca Shimadzu, modelo AUY220, e em seguida submersas em água destilada por 24 h. Após esse período as mesmas foram colocadas, rapidamente, em contato com papel toalha para retirada do excesso de água e pesadas. O grau de intumescimento foi calculado utilizando a Equação (1).

$$\%I = \left[\frac{m_f - m_i}{m_i} \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde: m_i = massa inicial

m_f = massa intumescida

Os ensaios de intumescimento foram realizados com 5 amostras de cada tipo (Algodão, Alg.+1%Quit, Alg.+1%Quit+3L: submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem; Alg.+1%Quit+5L: submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem; Alg.+2%Quit, Alg.+2%Quit+3L: submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem; Alg.+2%Quit+5L: submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem).

4.4.6 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

MICROORGANISMOS

Para este estudo foram utilizadas cepas microbianas provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC (25923), *Escherichia coli* ATCC (25922), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e *Candida albicans* ATCC (76645) recomendadas para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (CLSI, 2010).

MEIOS DE CULTURA

Para garantir a viabilidade dos micro-organismos em estoque, foi utilizado o Caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion). E para o cultivo e screening da atividade antimicrobiana foram utilizados os meios: Ágar Muller-Hinton e Ágar Sabourand, preparados em placas de Petri, contendo uma camada de ágar de 4mm de espessura, respectivamente para bactérias e leveduras. Os meios de cultura foram preparados de acordo com as especificações do fabricante DIFCO®.

PREPARAÇÃO DOS INÓCULOS

Após o enriquecimento em Caldo BHI, uma alíquota de cada crescimento foi semeada através da técnica de esgotamento por estrias em Ágar Muller Hinton para bactérias, incubando a 37°C por 24h e Ágar Sabourand para a levedura incubando a 30°C por 24/48h, permitindo dessa forma que os micro-organismos estivessem em crescimento exponencial, o que garante segurança maior durante a realização da análise. Após esse período de incubação, algumas colônias foram diluídas em solução salina estéril 0,85% até atingirem a turbidez correspondente a 0,5 da escala de McFarland, valor equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL originando uma suspensão bacteriana padrão (CLSI, 2010).

4.4.6.1 Determinação da atividade antimicrobiana – Screening (disco difusão) de atividade antimicrobiana

Inicialmente foi realizada uma triagem da atividade antimicrobiana da Quitosana nas concentrações de 2 e 1% e dos tecidos: Algodão+Quitosana 1%, Algodão+Quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem); Algodão+Quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem); Algodão+Quitosana 2%, Algodão+Quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem); Algodão+Quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) frente as cepas microbianas. Utilizando swabs esteréis que foram mergulhados na solução salina contendo a suspensão microbiana previamente padronizada, sendo posteriormente semeados por toda a superfície do meio de cultura (Agar Mueller-Hinton ou Ágar Sabourand) em diversas direções, permitindo um crescimento uniforme e confluyente. Em seguida foram adicionados discos de papel de filtro estéreis (CEFAR®) de 6 mm de diâmetro, previamente impregnados com 20µL da Quitosana nas diferentes concentrações citadas, sendo distribuídos uniformemente sobre a superfície do ágar (CLSI, 2010), garantindo que haja espaço para formação de possíveis halos de inibição.

Como controle negativo foi utilizado o solvente utilizado na preparação da solução de Quitosana, utilizando-se a mesma metodologia empregada para os produtos em avaliação. Como controles positivos foram utilizados discos CECON® de gentamicina (GEN 10µg) para *S. aureus* e *E. coli*, ciprofloxacino (CIP 30µg) para *P. aeruginosa* e fluconazol (FLU 10µg) para *C. albicans*. Após o semeio e distribuição dos discos, as placas foram incubadas a 37°C/24 h para bactérias e 30°C/24-48h para a levedura, sendo observada a formação de halos de inibição de crescimento, que foram medidos com auxílio de um halômetro (BAUER, 1966; CLSI, 2010).

Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados obtidos foram expressos pela média aritmética dos valores dos halos de inibição de crescimento, considerando-se como ativo o produto que apresentou halo com diâmetro igual ou superior a 8 mm (PAREKH, CHANDA, 2007; CATÃO, 2007).

4.4.6.2 Determinação de atividade antimicrobiana de tecidos impregnados com Quitosana (por pour-plate)

Para determinação da atividade antimicrobiana das amostras de tecidos de algodão impregnados com Quitosana 1% e 2%, foi realizado semeio por pour-plate (CLSI, 2010), onde 1mL de inóculo microbiano foi adicionado a 20mL de meio de cultura previamente resfriado a uma temperatura de 45°C e então dispensados em placa de Petri. Antes que o meio de cultura já inoculado estivesse sólido, os tecidos foram adicionados ao meio de modo que estivessem mergulhados no semeio. Sendo possível verificar possível formação de zona de inibição de crescimento após a incubação em estufa a 37°C por 24 horas para as cepas bacterianas e a 30°C por 48 horas para a cepa leveduriforme. Os testes foram realizados em triplicata.

4.4.6.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) - (Microdiluição)

A CIM e a CBM foram determinadas pela técnica de diluição em microplacas (96 orifícios) de acordo com a metodologia descrita segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2010). Os orifícios das microplacas (96 poços) foram preenchidos com 100µL de caldo Mueller-Hinton para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27486 e para *Candida albicans* ATCC 75483 foi utilizado caldo sabourand. Em seguida foram acrescentados 100µL da solução de Quitosana 1,5% e realizada a diluição seriada de 1 a 0,001%. Adicionalmente foram distribuídos 10µL das suspensões dos micro-organismos em cada orifício das microplacas. A CIM foi considerada a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento da cepa (HÖRNER et al., 2008), já a CBM é definida como a menor concentração de agente antibacteriano que mata o micro-organismo (LORIAN, 1986). Também foram realizados o controle de esterilidade do meio de cultura, o controle de crescimento bacteriano, o controle

do produto testado e o controle negativo (solvente – Ácido acético 1%). Foi utilizada resazurina 0,01% para revelação do crescimento, onde a coloração rosa indica presença de células viáveis e a coloração azul indica ausência de células viáveis. As microplacas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas para as cepas bacterianas e a 30°C por 48 horas para a cepa leveduriforme. Os testes foram realizados em triplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBSERVAÇÕES GERAIS

Em análise visual verificou-se que as amostras preparadas e impregnadas com quitosana 1% apresentaram-se mais flexíveis e com distribuição de quitosana mais uniforme e homogênea na superfície do tecido de algodão do que as amostras impregnadas com quitosana 2% que se tornaram menos maleáveis. Porém, ambos os grupos de amostras conseguiram ficar impregnados com quitosana a 1% e 2%, conforme pode-se verificar nos resultados dos ensaios de caracterização apresentados no decorrer deste capítulo.

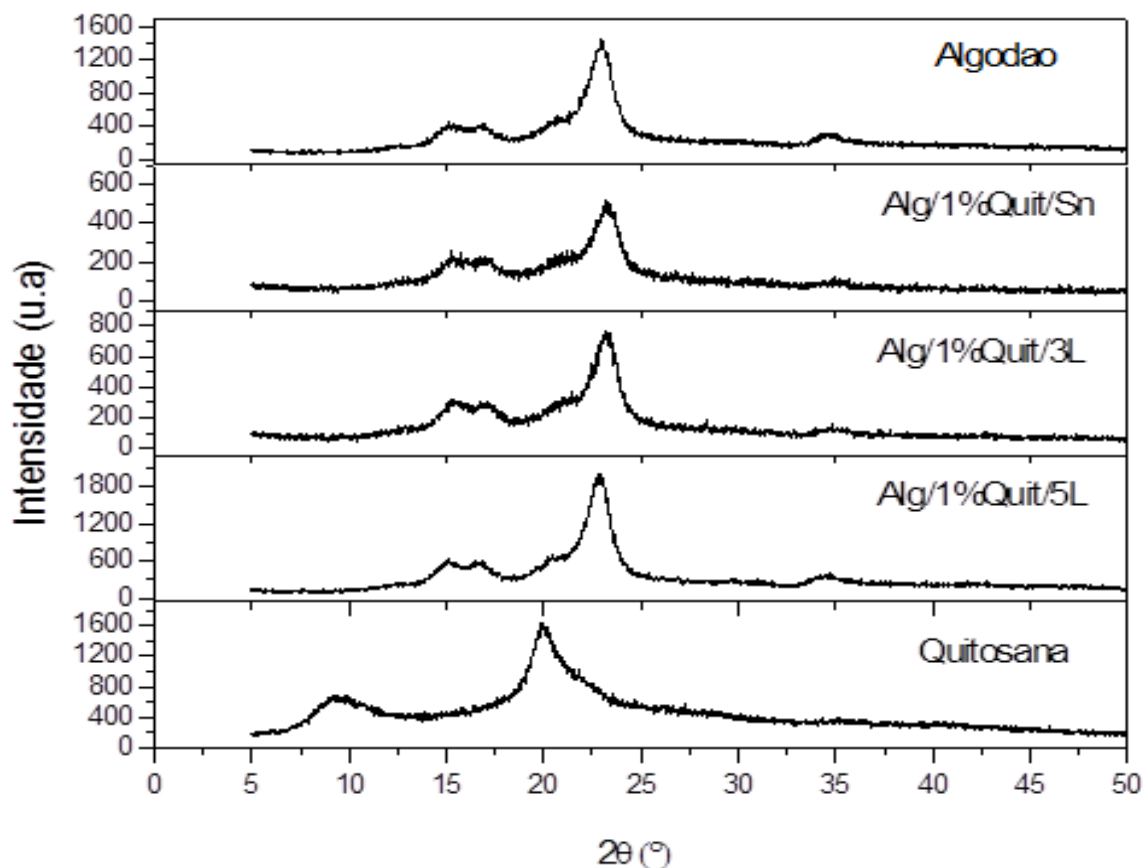
5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A Figura 7 ilustra os difratogramas do tecido de algodão (sem impregnação), tecido de algodão com 1% quitosana sem lavagem, tecido de algodão com 1% quitosana submetido a 3 e 5 ciclos de lavagem e secagem e por último o pó da quitosana.

O difratograma do tecido de algodão apresentou picos característicos de materiais semicristalinos, onde os picos em torno $2\theta = 15^\circ$, 17° , 23° e $34,5^\circ$ indicam a presença de celulose com o comportamento semicristalino e picos característicos do algodão e corrobora com Teixeira (2010).

O difratograma da quitosana apresentou picos típicos de material semicristalinos, com base larga em torno de $2\theta = 10^\circ$ e $2\theta = 20^\circ$ e corrobora com Lima (2010), Barbosa (2011) e Sousa (2012). A quitosana possui um perfil semicristalino devido às fortes interações intra e intermolecular, caracterizado pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, álcool, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana. Essas fortes interações fornecem certa organização à estrutura cristalina da quitosana (URAGAMI; TOKURA, 2006).

Figura 7 - Difratogramas: Algodão; Alg./1%Quit/Sn; Alg./1%Quit/3L; Alg./1%Quit/5L; Quitosana. Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem)



Fonte: Própria

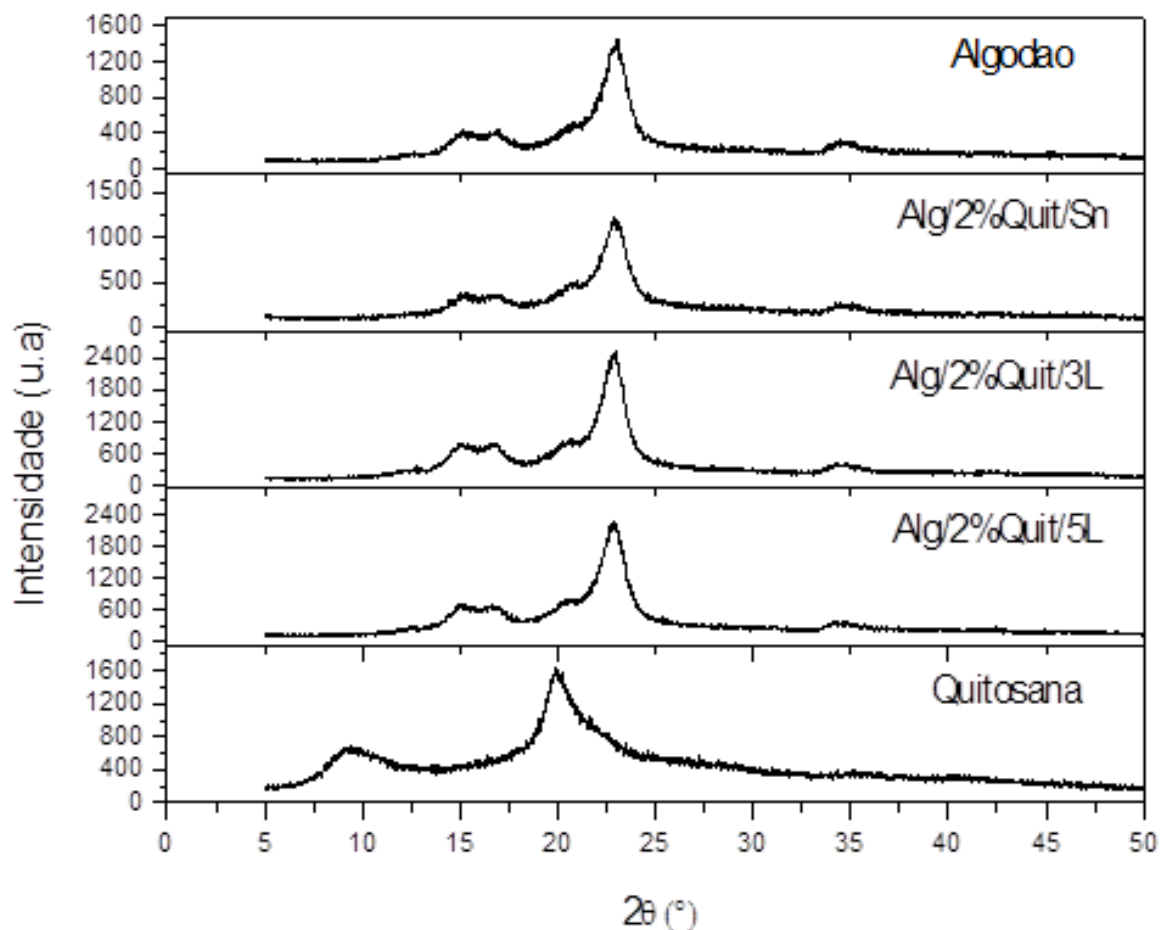
O difratograma da amostra Alg./1%Quit/Sn (sem lavagem), apresenta um difratograma com picos característicos similares à do algodão, contudo ocorreu a diminuição das intensidades dos picos característicos devido à inserção/impregnção de quitosana 1%.

Nos difratogramas das amostras Alg./1%Quit/3L (3 ciclos de lavagem e secagem) e Alg./1%Quit/5L (5 ciclos de lavagem e secagem) mostram que as intensidades dos picos característicos voltaram gradativamente às intensidades dos picos característicos da curva do algodão, podendo-se inferir que houve perda/desprendimento da quitosana durante os processos de lavagem e secagem.

A Figura 8 ilustra os difratogramas do tecido de algodão sem impregnção, tecido de algodão com 2% quitosana sem lavagem, tecido de algodão com 2%

quitosana submetido a 3 e 5 ciclos de lavagem e secagem e por último o pó quitosana.

Figura 8 - Difratomogramas: Algodão; Alg./2%Quit/Sn; Alg./2%Quit/3L; Alg./2%Quit/5L; Quitosana. Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem)



Fonte: Própria

O difratograma da amostra Alg./2%Quit/Sn (sem lavagem), apresenta uma curva característica similar à do algodão, contudo com pequena diminuição das intensidades dos picos causada pela inserção/impregnação de quitosana 2%.

A diminuição das intensidades dos picos característicos foi maior na amostra Alg./1%Quit/Sn do que na amostra Alg./2%Quit/Sn.

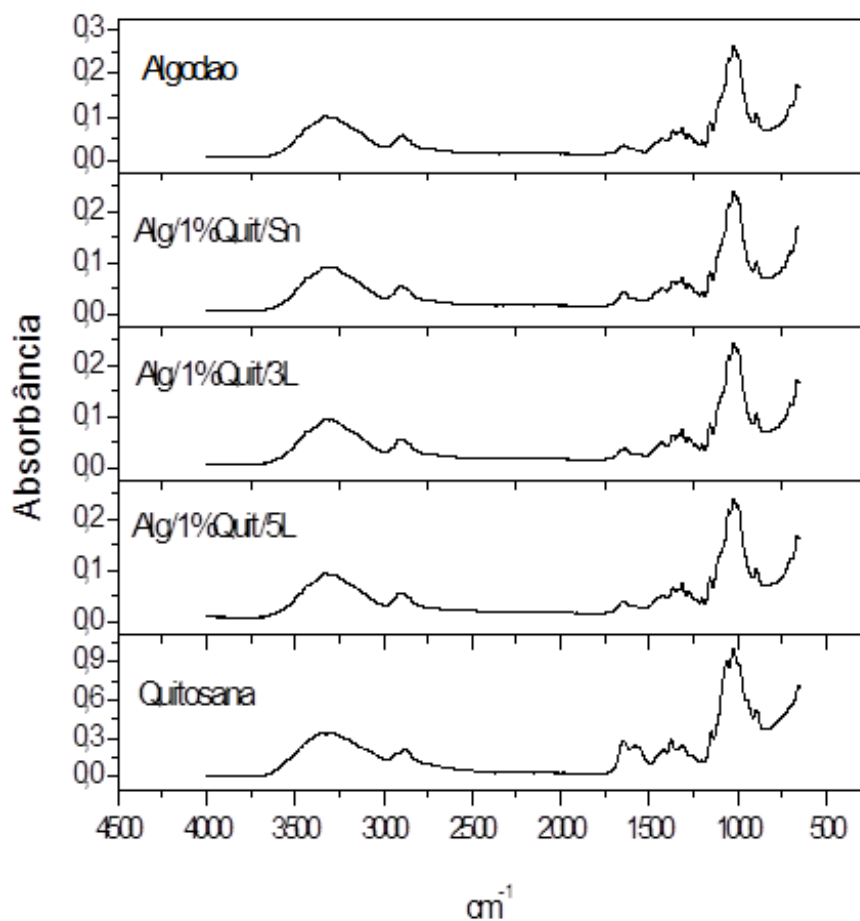
Nos difratogramas das amostras Alg./2%Quit/3L (3 ciclos de lavagem e secagem) e Alg./2%Quit/5L (5 ciclos de lavagem e secagem) mostram que as intensidades dos picos característicos voltaram gradativamente às intensidades dos picos característicos da curva do algodão, podendo-se inferir que houve

perda/desprendimento da quitosana durante os processos de lavagem e secagem.

5.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Figura 9 ilustra os resultados de FTIR do tecido de algodão sem quitosana, do tecido de algodão + quitosana 1% e sem lavagens, do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) e do pó da quitosana isoladamente.

Figura 9 – Espectros FTIR: Algodão; Alg./1%Quit/Sn; Alg./1%Quit/3L; Alg./1%Quit/; Quitosana (pó de quitosana) isolada. Onde: Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e secagem)

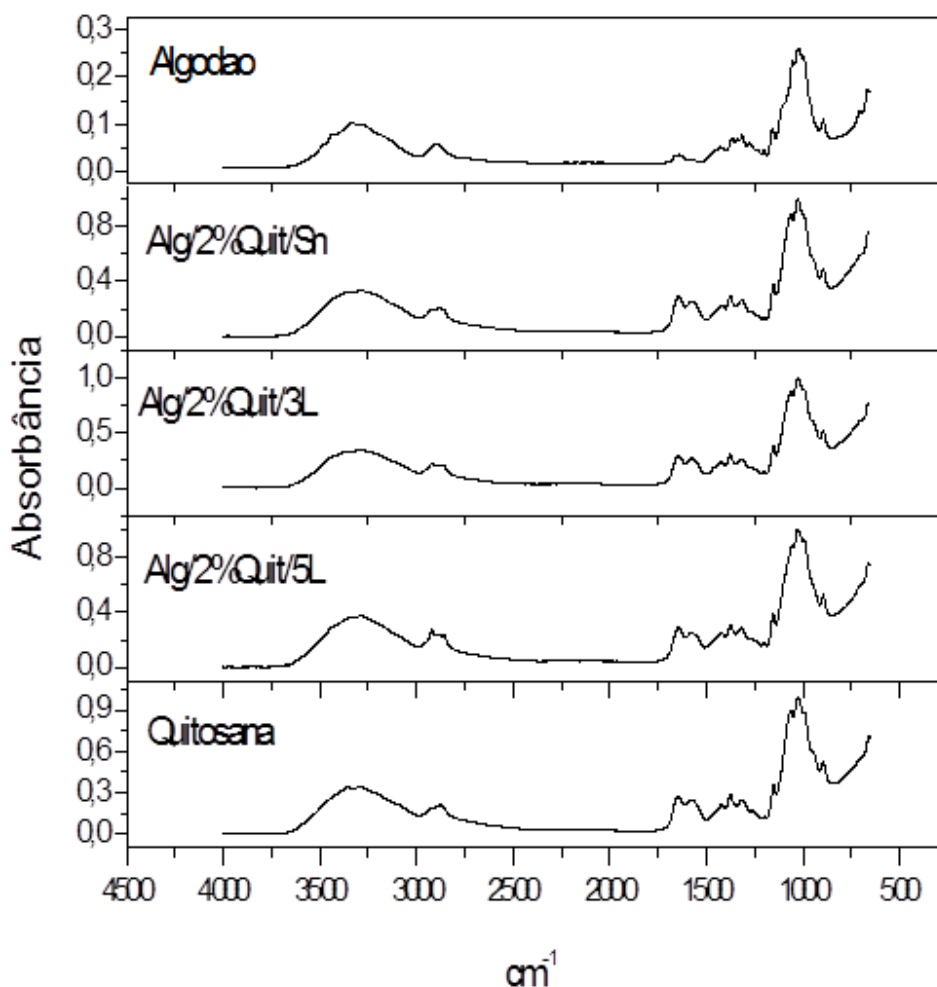


Fonte: Própria

Observa-se na Figura 9, que os espectros: Alg/1% Quit/Sn, Alg/1% Quit/3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem) e Alg/1% Quit/5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) apresentaram bandas de absorção bem similares às apresentadas no espectro do tecido de algodão sem impregnação, indicando que não houve alteração significativa com a adição da quitosana.

A Figura 10 ilustra os resultados de FTIR do tecido de algodão sem quitosana, do tecido de algodão + quitosana 2% e sem lavagens, do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) e do pó da quitosana isoladamente.

Figura 10 – Espectros FTIR: Algodão; Alg./2%Quit/Sn; Alg./2%Quit/3L; Alg./2%Quit/5L; Quitosana (pó de quitosana). Onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), Sn (sem lavagem) e L (ciclo de lavagem e e secagem).



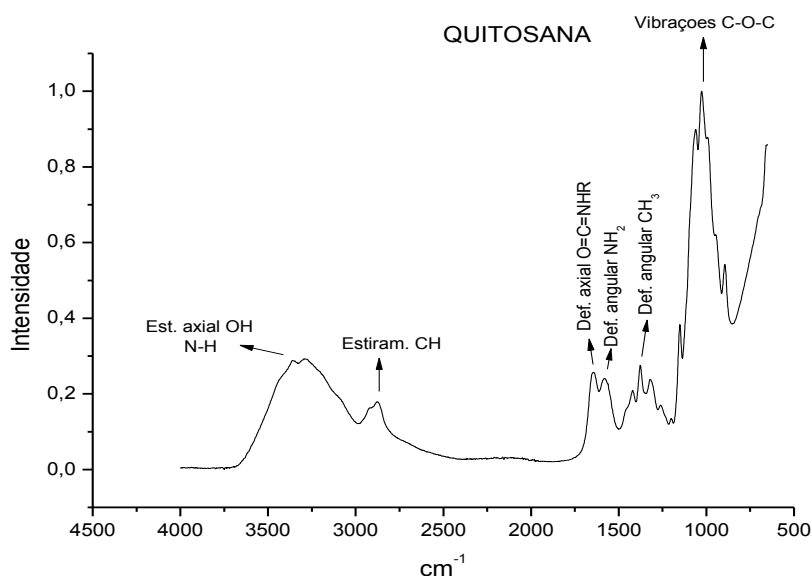
Fonte: Própria

Observa-se na Figura 10, que os espectros: Alg/2% Quit/Sn, Alg/2% Quit/3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem) e Alg/2% Quit/5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) apresentaram bandas de absorção bem similares às apresentadas no espectro da quitosana indicando a efetiva interação da impregnação da quitosana 2% ao tecido de algodão.

Observa-se também nas Figuras 9 e 10 que os espectros característicos do tecido de algodão e da quitosana apresentam bandas de absorções similares com pequenas diferenças e deslocamentos dos picos de absorção, visto que o algodão (celulose) e a quitosana são polímeros com alguns grupos funcionais comuns tais como OH, CH e C-O-C, corroborando com Zornio (2013) e Ponciano (2010).

Analisando os espectros da quitosana nas Figuras 9 e 10, verifica-se que as bandas de absorções apresentadas estão de acordo com Sousa (2012), Barbosa, (2011) e Ponciano, (2010), Pode-se ainda afirmar que a quitosana não é 100% desacetilada pois possui uma banda característica da amida ($O = C - NHR$) na região de 1658cm^{-1} conforme indicado por Sousa (2012) e Barbosa (2011). As bandas de absorções e picos obtidos nos ensaios estão de acordo com a Figura 11 – Espectros da Quitosana, Sousa (2012).

Figura 11 - Espectros da Quitosana.



Fonte:Sousa (2012)

As bandas observadas no espectro da quitosana estão de acordo com Ponciano, (2010), conforme ilustrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Bandas de absorção no FTIR dos filmes de quitosana com GD de 75% – 85%

Número de onda (cm⁻¹)	Atribuição
3334	Deformação axial de O-H e N-H do grupo NH ₂
2928 e 2873	Deformação axial de C-H de grupos CH ₂ e CH ₃
1652	Deformação axial de RHN-C= O (amida)
1586	Deformação angular N-H do grupo NH ₂ (amina)
1423 e 1319	Deformação angular de O-H e deformação angular de C-H do anel glicosídico
1377	Deformação angular do C-H de CH ₃
1150,1062 e1020	Deformação axial do C-O-C da ligação éter

Fonte: PONCIANO, 2010.

Analisando os espectros referentes ao tecido de algodão sem impregnação apresentados nas Figuras 9 e 10, verifica-se que as bandas de absorções apresentadas estão condizentes com Zornio (2013) e Matsushita, et al. (2012). As bandas observadas no espectro do tecido de algodão estão próximas ao citado por Zornio, (2013), conforme são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Bandas de absorção no FTIR para fibra de algodão sem modificação.

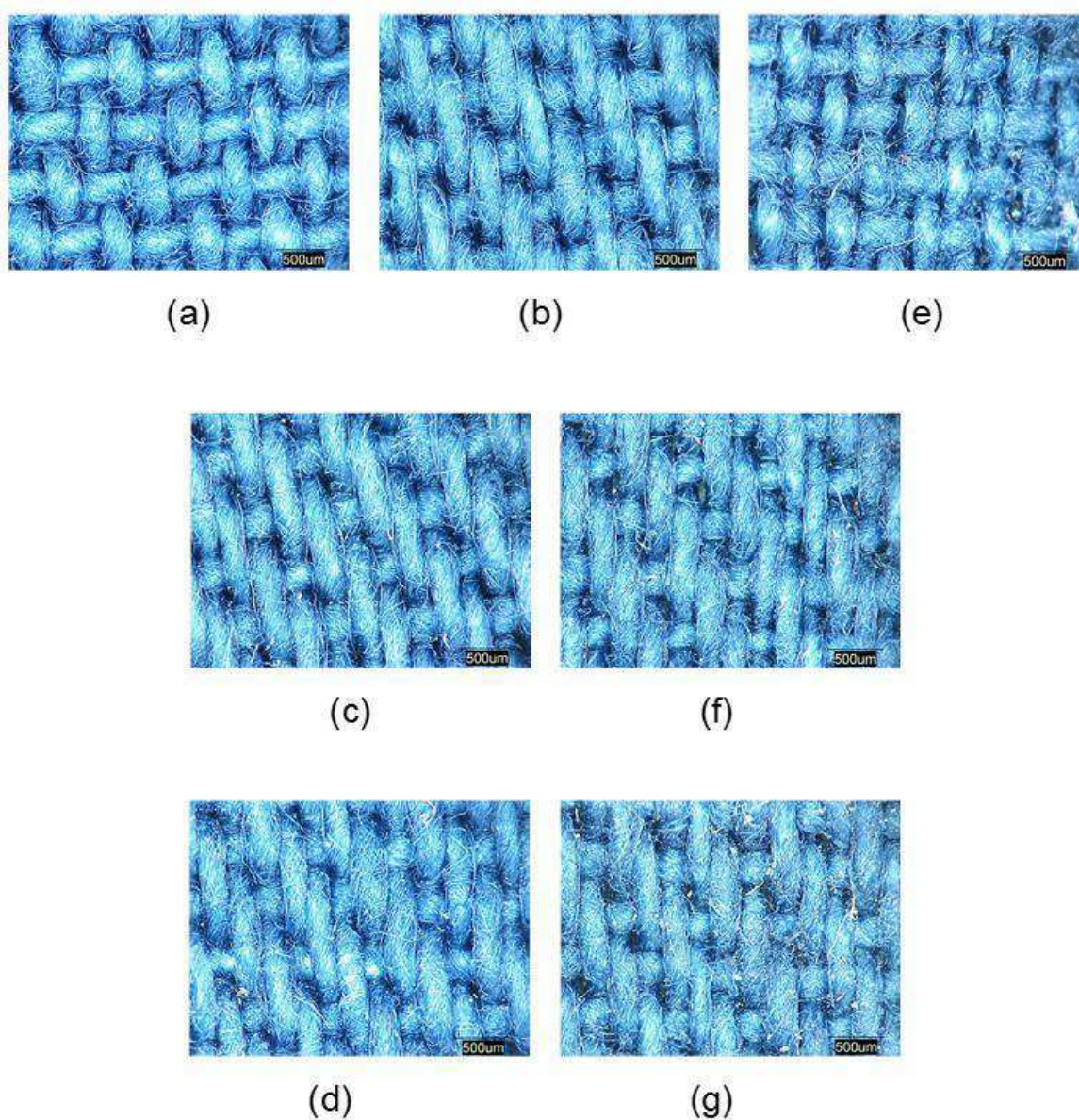
Número de onda (cm⁻¹)	Atribuição
3332	Estiramento O-H
2909	Estiramento C-H (grupos CH ₂)
1430 e 1321	Deformação angular C-H
1155 e 1109	Estiramento assimétrico C-O-C do anel e da ligação glicosídica.

Fonte: ZORNIO, 2013.

5.4 MICROSCOPIA ÓTICA (MO)

A Figura 12 ilustra as micrografias das amostras de tecido de algodão sem e com quitosana nas concentrações de 1% e 2% e também suas variações quando submetidas aos ciclos de lavagem e secagem.

Figura 12 - Microscopia ótica (aumento 100x): (a) Algodão(Alg); (b) Alg + 1% Quitosana(Quit) sem lavagem(Sn); (c) Alg + 1% Quit + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem); (d) Alg + 1% Quita + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem); (e) Alg + 2% Quit. (Sn); (f) Alg + 2% Quit + 3L; (g) Alg + 2% Quit + 5L;



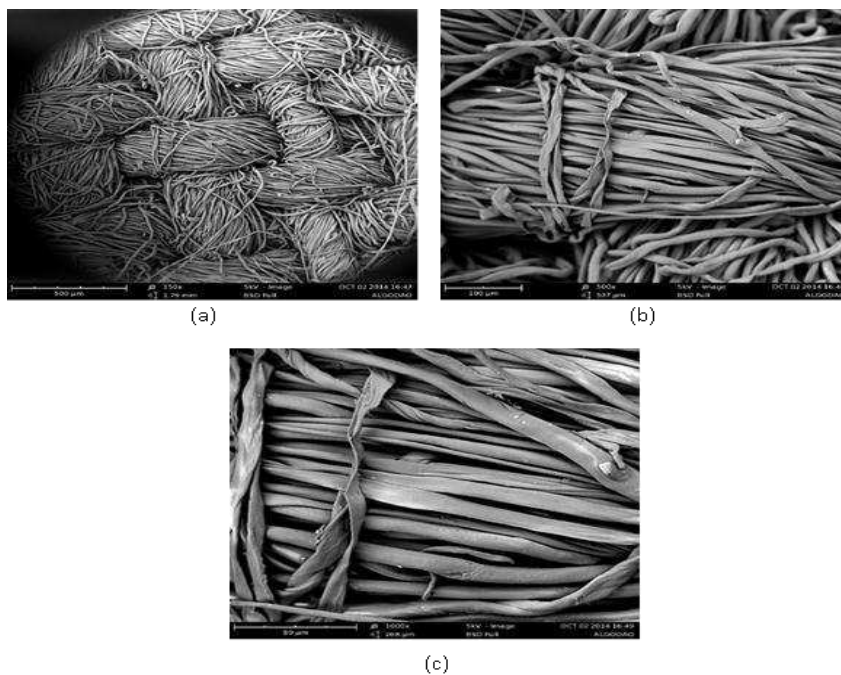
Fonte: Própria

Apesar de visualmente ter sido verificado a formação de uma camada superficial e brilhante de quitosana à 1% e 2% nas amostras de tecidos geradas, nas imagens obtidas de microscopia ótica ilustradas nas figuras 12(a), 12(b), 12(c), 12(d), 12(e), 12(f) e 12(g) não foi possível identificar grandes diferenças que evidenciem a impregnação do tecido por quitosana a 1% e 2%. Pode-se notar apenas que as amostras impregnadas com quitosana 1% e 2% ficaram levemente mais brancas em comparação com a amostra de tecido de algodão sem impregnação.

5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) e ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS X (EDS)

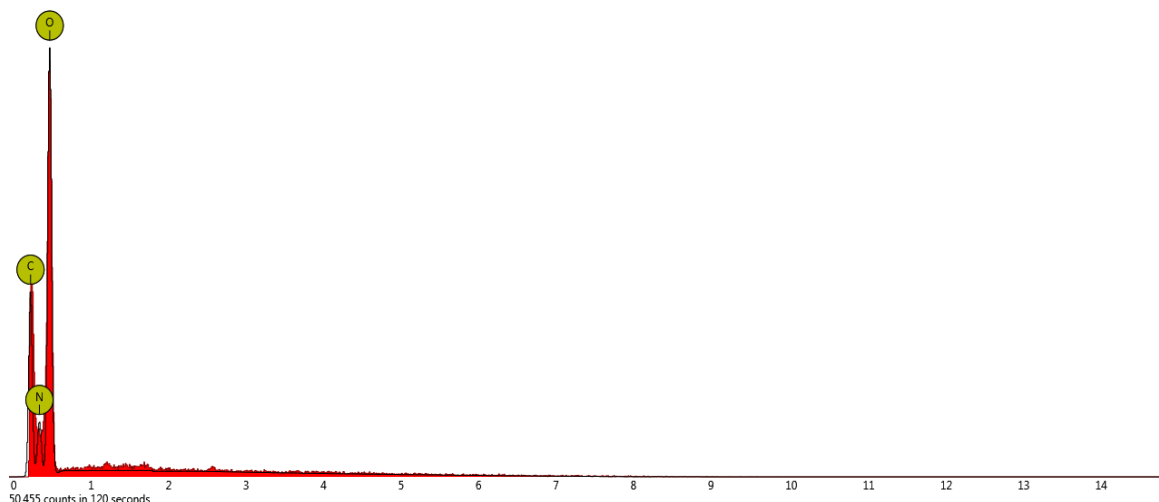
A Figura 13 ilustra a micrografia do tecido de algodão. Já a Figura 14 ilustra o EDS do tecido de algodão e a Tabela 5 observa-se a composição química do tecido de algodão realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

Figura 13 - Micrografias do tecido de algodão: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x.



Fonte: Própria

Figura 14 - EDS tecido de algodão.



Fonte: Própria

Tabela 5 - Identificação e composição química do tecido de algodão realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

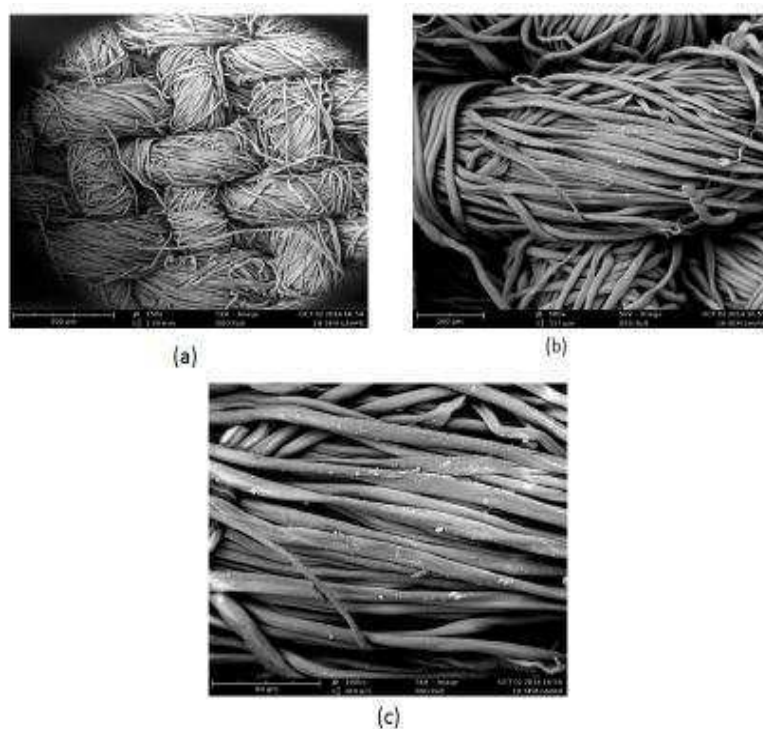
Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	89,0	99,1	0,9
6	C	Carbono	5,5	98,6	1,4
7	N	Nitrogênio	5,5	97,3	2,7

Fonte: Própria

Ao analisar as micrografias do tecido de algodão na Figura 13 observa-se fibras do algodão de formato alongado sendo compatível com a descrições de fibras de algodão feitas por SILVA et al., (2009), sendo formada basicamente por celulose (polímero natural). Observa-se na Figura 14 e Tabela 5 do resultado do EDS a presença de nitrogênio (5,5 % da composição química do tecido) provavelmente proveniente da composição química do corante azul utilizado na produção do tecido de algodão sendo compatível com Guaratini et al., (2000), que informa da existência de diversos tipos de corantes e a maioria deles possui o elemento Nitrogênio em suas composições químicas. Um tecido de algodão natural sem corante, formado basicamente por celulose, teria em sua composição química apenas a presença de oxigênio, carbono e hidrogênio, segundo Silva et al., (2009) e Sonesso (2011).

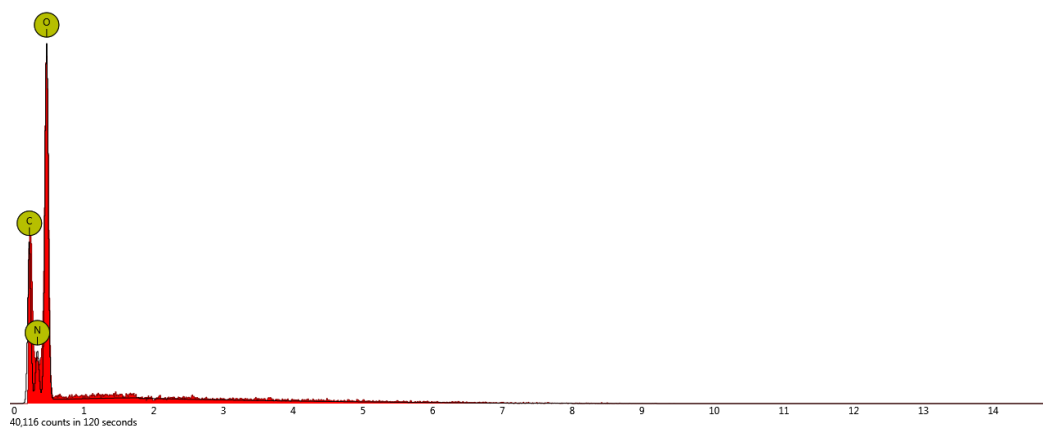
A Figura 15 ilustra a micrografia do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem, a Figura 16 ilustra o EDS do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem e a Tabela 6 observa-se a composição química.

Figura 15 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 16 - EDS tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem.



Fonte: Própria

Tabela 6 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1%, sem lavagem, realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,4	99,0	1,0
6	C	Carbono	5,5	98,5	1,5
7	N	Nitrogênio	6,1	97,1	2,9

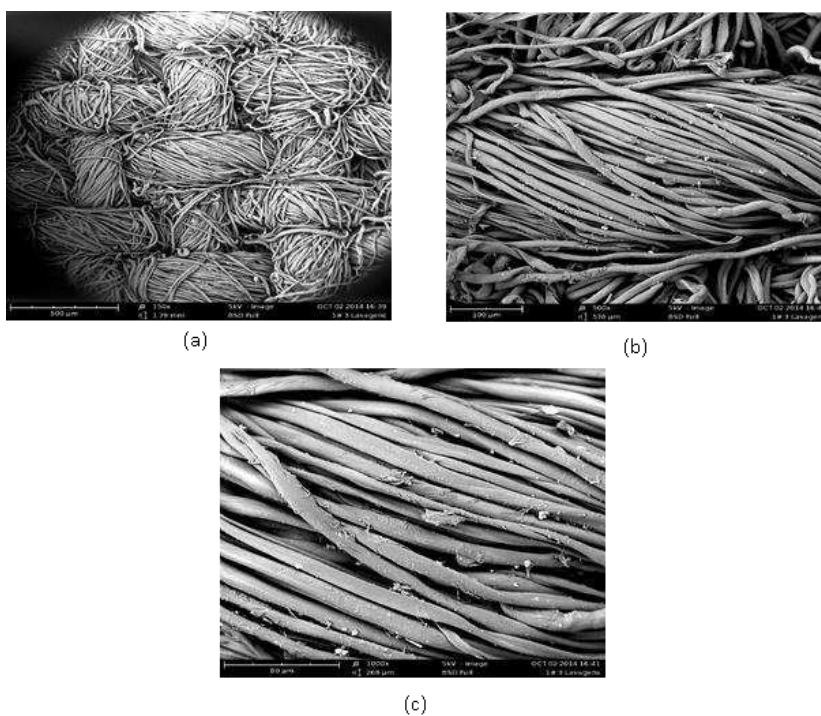
Fonte: Própria

Na Figura 15, referente ao algodão + 1% de quitosana, observa-se pontos brancos dispersos indicando a presença/impregnação de quitosana, bem como na Figura 16 e na Tabela 6, do resultado do EDS, que houve o aumento percentual da concentração do nitrogênio para 6,1% em relação aos 5,5% de nitrogênio encontrado na composição do tecido de algodão sem impregnação (Figura 13 e Tabela 5), podendo-se inferir que este aumento foi devido a adição de quitosana 1% ao tecido, visto que a quitosana possui em sua composição química o elemento químico nitrogênio segundo Sousa (2012), Barbosa (2011), Ponciano (2010) e Kumar (2000).

Este resultado está compatível com os resultados do estudo realizado por Periolatto, et al. (2012) sobre o recobrimento de tecidos de algodão e de seda com uma solução de quitosana (2 % em massa) em ácido acético aquoso (2% v/v), em que foi observado por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a presença de pontos brancos na superfície dos tecidos tratados e concluíram que a quitosana penetrou no interior das fibras dos tecidos de algodão e de seda, conferindo a estes tecidos uma forte atividade bactericida.

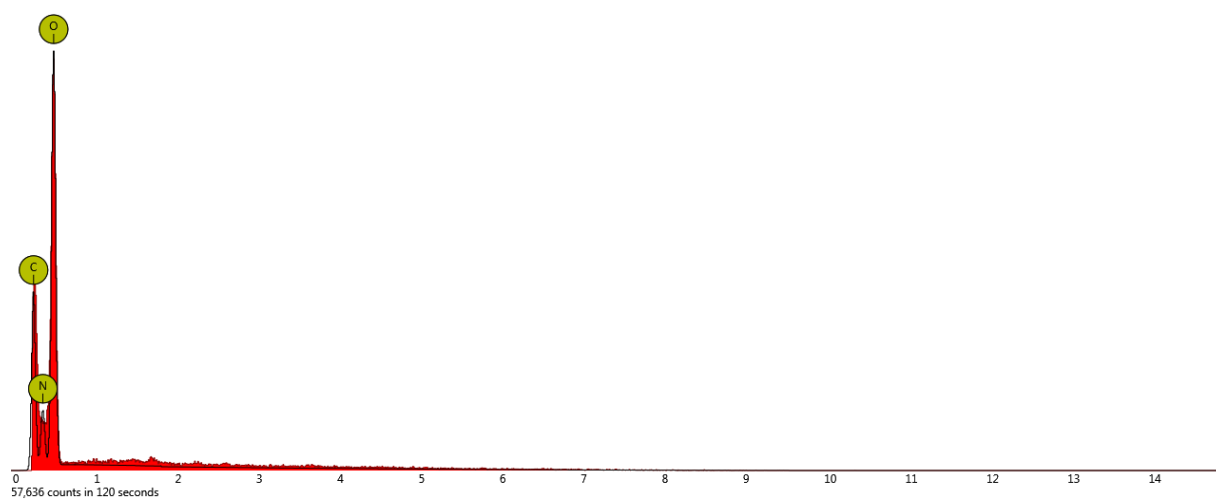
A Figura 17 ilustra a micrografia do tecido de algodão algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), a Figura 18 ilustra o EDS do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem) e a Tabela 7 observa-se a composição química.

Figura 17 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 18 - EDS tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem).



Fonte: Própria

Tabela 7 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

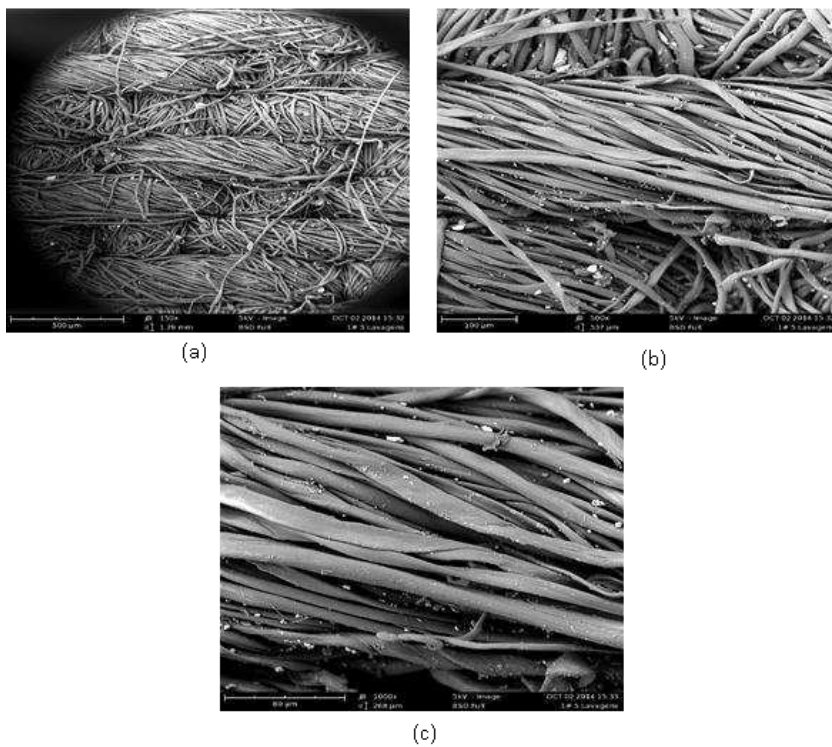
Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,7	99,2	0,8
6	C	Carbono	5,3	98,7	1,3
7	N	Nitrogênio	6,0	97,6	2,4

Fonte: Própria

Na Figura 17(c), referente ao tecido + 1% de quitosana submetido a 3 ciclos de lavagem e secagem, observa-se pequena redução dos pontos brancos indicando possível perda da quitosana no processo de lavagem e secagem da amostra de tecido corroborando com PERIOLATTO, et al. (2012) que indica perda de quitosana nos resultados das caracterizações realizadas após os processos de lavagem do tecido. Observa-se a presença/impregnação de quitosana, bem como na Figura 18 e na Tabela 7 do resultado do EDS, que o percentual da concentração do nitrogênio 6,0% continua acima dos 5,5% de nitrogênio encontrado na composição do tecido de algodão sem impregnação (Figura 13 e Tabela 5), podendo-se inferir a presença de quitosana, visto que esta possui em sua composição química o elemento químico nitrogênio segundo Sousa (2012), Barbosa (2011), Ponciano (2010) e Kumar (2000).

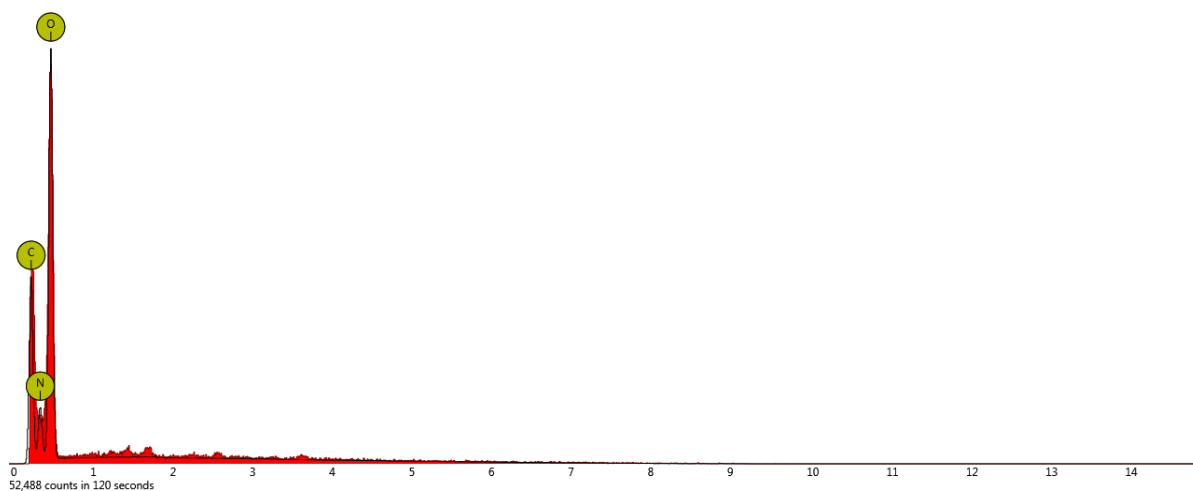
A Figura 19 ilustra a micrografia do tecido de algodão algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), a Figura 20 ilustra o EDS do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) e a Tabela 8 observa-se a composição química.

Figura 19 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 20 - EDS tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem).



Fonte: Própria

Tabela 8 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 1% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

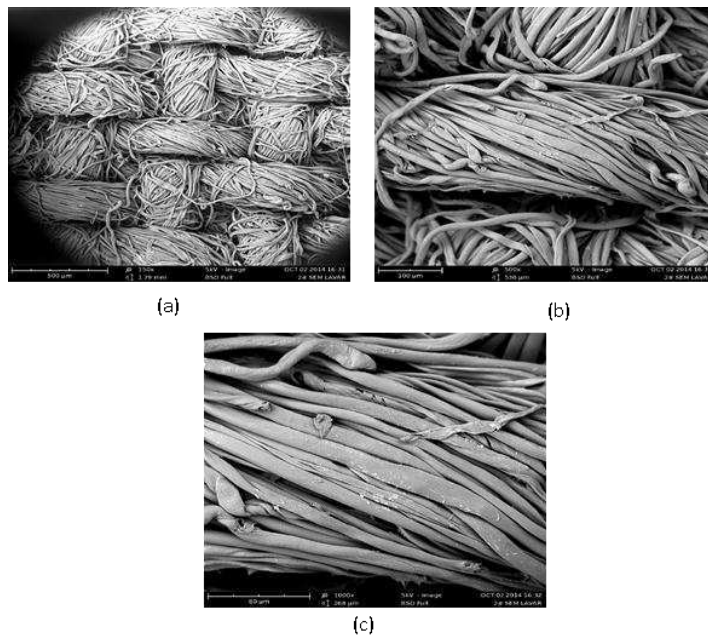
Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,7	99,1	0,9
6	C	Carbono	5,6	98,6	1,4
7	N	Nitrogênio	5,7	97,2	2,8

Fonte: Própria

Na Figura 19(c), referente ao tecido + 1% de quitosana submetido a 5 ciclos de lavagem e secagem, não foi possível observar diferença significativa em relação à Figura 17(c). Observa-se a presença/impregnação de quitosana, bem como na Figura 18 e na Tabela 8 do resultado do EDS, que o percentual da concentração do nitrogênio 5,7% foi pouco superior 5,5% de nitrogênio encontrado na composição do tecido de algodão sem impregnação (Figura 13 e tabela 5).

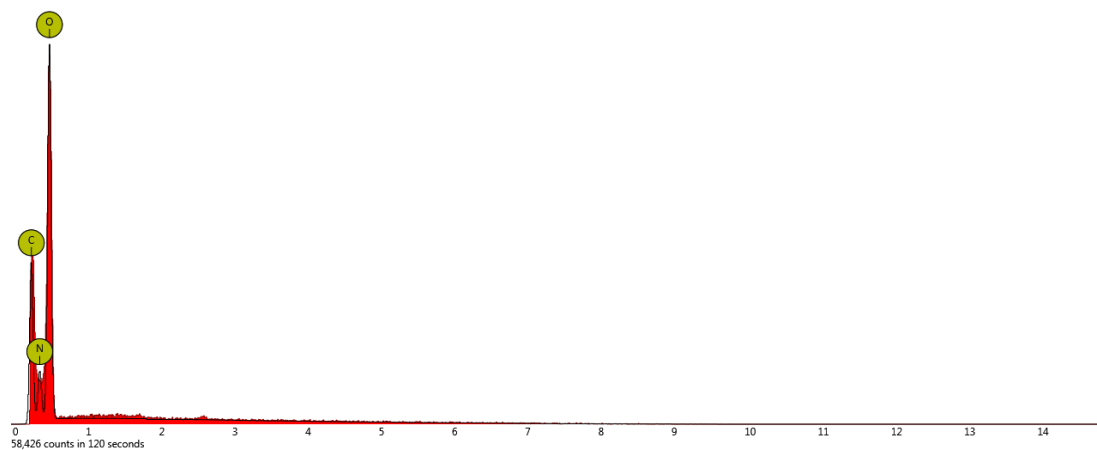
Na Figura 21, referente ao tecido + 2% de quitosana, observa-se poucos pontos brancos dispersos indicando a presença/impregnação de quitosana, bem Observa-se na Figura 22 e na Tabela 9 do resultado do EDS, que houve o aumento percentual da concentração do nitrogênio para 5,8% em relação aos 5,5% de nitrogênio encontrado na composição do tecido de algodão sem impregnação (Figura 13 e Tabela 5), podendo-se inferir que este aumento foi devido a adição de quitosana 2% ao tecido.

Figura 21 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem: (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 22 - EDS tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem.



Fonte: Própria

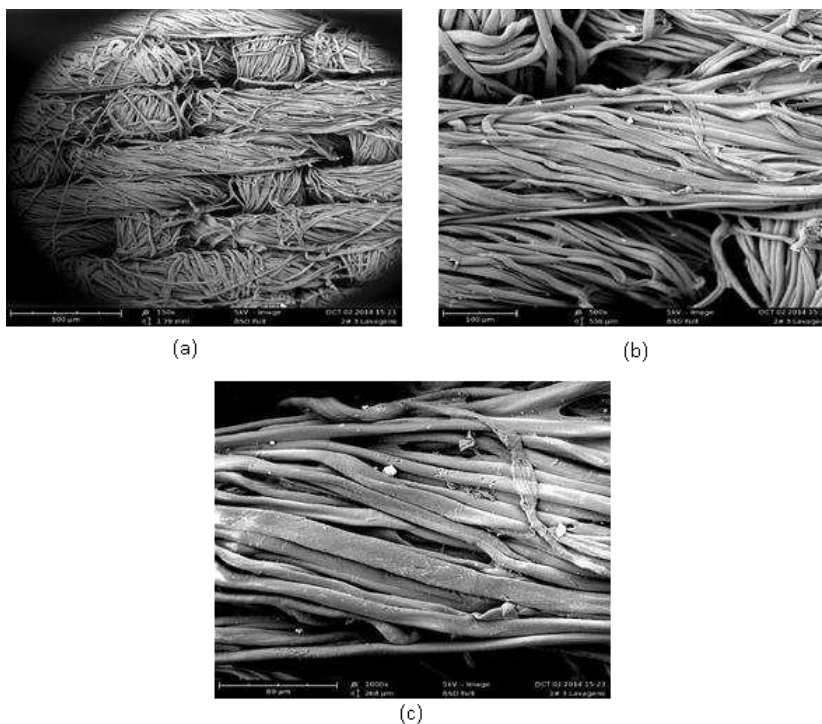
Tabela 9 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2%, sem lavagem, realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,9	99,2	0,8
6	C	Carbono	5,3	98,7	1,3
7	N	Nitrogênio	5,8	97,5	2,5

Fonte: Própria

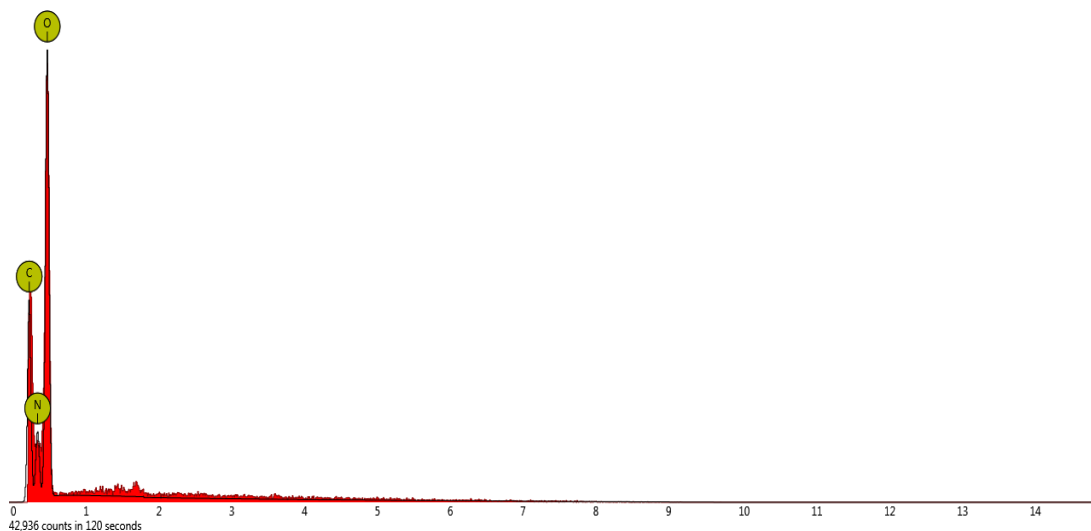
A Figura 23 ilustra a micrografia do tecido de algodão algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), a Figura 24 ilustra o EDS do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem) e a Tabela 10 observa-se a composição química.

Figura 23 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 24 - EDS tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem).



Fonte: Própria

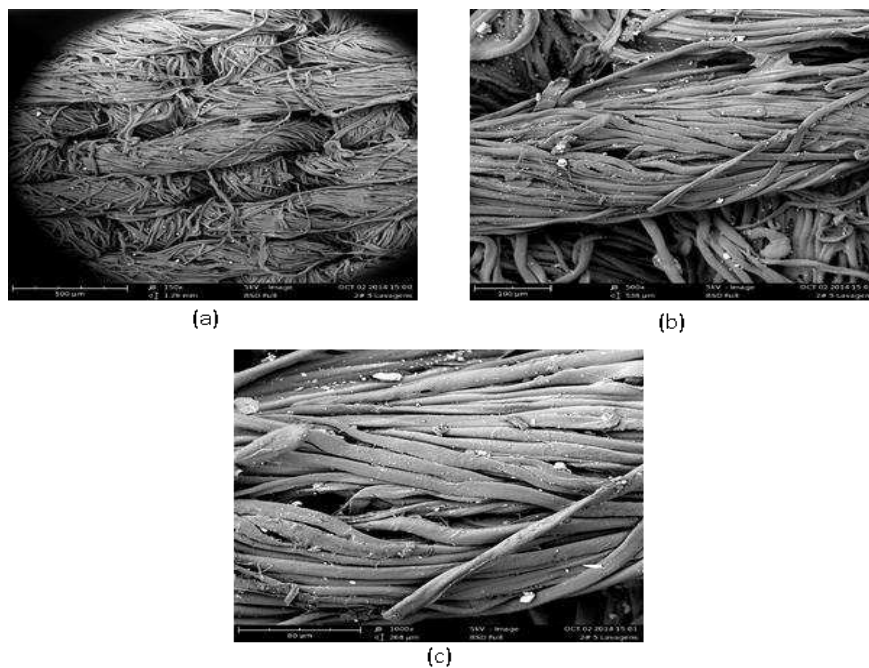
Tabela 10 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2% + 3L (submetida a 3 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,2	99,0	1,0
6	C	Carbono	5,5	98,5	1,5
7	N	Nitrogênio	6,4	97,2	2,8

Fonte: Própria

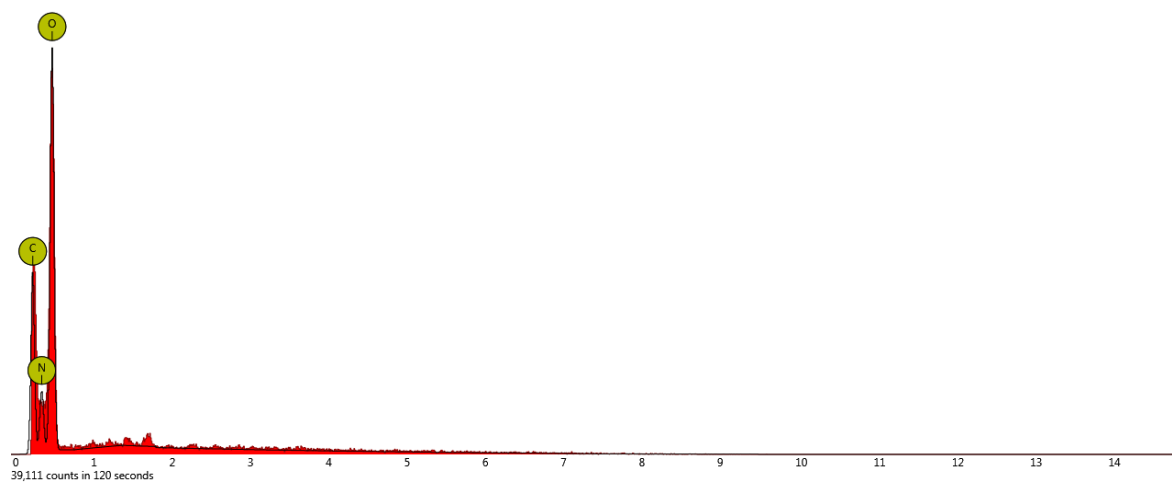
A Figura 25 ilustra a micrografia do tecido de algodão algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), a Figura 26 ilustra o EDS do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem) e a Tabela 11 observa-se a composição química.

Figura 25 - Micrografias do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem): (a) Aumento 150x; (b) Aumento de 500x; (c) Aumento de 1000x



Fonte: Própria

Figura 26 - EDS tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem).



Fonte: Própria

Tabela 11 - Identificação e composição química do tecido de algodão + quitosana 2% + 5L (submetida a 5 ciclos de lavagem e secagem), realizada por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).

Nº Elemento	Símbolo	Identificação	Concentração (%)	Confiança (%)	Erro (%)
8	O	Oxigênio	88,1	99,0	1,0
6	C	Carbono	5,4	98,4	1,6
7	N	Nitrogênio	6,5	97,1	2,9

Fonte: Própria

Nas Figuras 23 e 25, referente ao tecido + 2% de quitosana submetidos a 3 e 5 ciclos de lavagem respectivamente, observa-se pontos brancos dispersos indicando a presença/impregnação de quitosana e não observa-se diminuição da quantidade de quitosana. Observa-se nas Figuras 24 e 26 e nas Tabelas 10 e 11 referente ao resultado do EDS, que a concentração do nitrogênio em relação aos 5,5% de nitrogênio encontrado na composição do tecido de algodão sem impregnação (Figura 13 e tabela 5), podendo-se inferir na presença de quitosana.

Com os resultados obtidos nos ensaios de caracterização MEV/EDS observou-se que houve a impregnação de quitosana a 1% e 2%, sendo mais efetiva e resistente na concentração de 2%.

Estes resultados estão compatíveis com os resultados de DRX, FTIR e de Intumescimento apresentados neste trabalho..

Pode-se dizer também que após os 5 ciclos de lavagem e secagem realizados, mesmo havendo perdas/desprendimento da quitosana, observa-se ainda a presença da quitosana nas amostras: Alg./Quit.1%/5L e Alg./Quit.2%/5L.

5.6 INTUMESCIMENTO

Na Tabela 12, observa-se o grau de intumescimento e seus respectivos desvio das amostras de algodão com e sem impregnações.

Tabela 12 – Grau de intumescimento, onde Quit=quitosana, Alg. (algodão), e L (ciclo de lavagem e secagem)

Amostra	Grau de Intumescimento	Desvio Padrão
Algodão	173,7%	±9,17
Alg+1%Quit	126,3%	±10,15
Alg+1%Quit+3L	151,2%	±8,05
Alg+1%Quit+5L	167,2%	±4,01
Alg+2%Quit	121,7%	±16,58
Alg+2%Quit/3L	130,5%	±11,11
Alg+2%Quit+5L	141,5%	±9,09

Fonte: Própria

Dos resultados observados na tabela 12, verifica-se que o grau de intumescimento da amostra de algodão + 1% Quit sem lavagem foi menor do que amostra de tecido de algodão sem impregnação, indicando que a impregnação de quitosana 1% diminuiu o grau de intumescimento, diminuindo a absorção de água pela amostra. Quanto menor o grau de intumescimento menor a absorção de água pela amostra.

Pode-se inferir também que à medida que a amostra de Algodão + 1% Quitosana passou por ciclos de lavagem (3L e 5L: submetida a 3 e a 5 ciclos de lavagem respectivamente), o grau de intumescimento aumentou novamente voltando quase ao patamar do grau de intumescimento da amostra de algodão sem impregnação. Este fato indica que houve o desprendimento da quitosana durante os processos de lavagem e secagem. Contudo, o grau de intumescimento das amostras submetidas a 5 ciclos de lavagem e secagem ainda ficou menor do que o do algodão sem impregnação, inferindo-se que ainda existe quitosana impregnada.

Verifica-se que o grau de intumescimento obtido da amostra Alg.+2%Quit foi menor do que o da amostra Alg+1%Quit podendo-se dizer que houve maior impregnação de quitosana em solução a 2% do que em solução a 1%.

Verifica-se também que a impregnação do tecido de algodão em solução de quitosana 2% foi mais efetivo e mais resistente, visto que mesmo após os 5 ciclos de lavagem o grau de intumescimento da amostra Alg+2%Quit+5L ficou menor do que o da amostra Alg+1%Quit+5L e do que o da amostra de algodão sem impregnação, evidenciando ainda a presença de quitosana.

5.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

5.7.1 Determinação da atividade antimicrobiana – Screening (disco difusão) de atividade antimicrobiana

Na Figura 27 estão ilustrados os resultados dos ensaios de Screening (disco difusão) para solução de quitosana 1% e 2% diluídas nos discos testes e das amostras de tecidos de algodão impregnados com quitosana em 1% e 2% frente à cepa *S. aureus* ATCC 25923.

Figura 27 – Resultado do ensaio: Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana da solução de quitosana e dos tecidos de algodão + quitosana 1% e 2% frente a cepa *S. aureus* ATCC 25923.



Fonte: Própria

Na Tabela 13 são ilustrados os resultados dos ensaios de Screening (disco difusão) para solução de quitosana 1% e 2% diluídas nos discos de papel de filtro estéreis, passa o controle negativo de solução de ácido acético 1% e para os controles positivos: discos CECON® de gentamicina (GEN 10µg) para *S. aureus* e

E. coli, ciprofloxacino (CIP 30µg) para *P. aeruginosa* e fluconazol (FLU 10µg) para *C. albicans*.

Tabela 13 – Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana da solução de quitosana.

	Produto Testado / Concentração inicial (mg/mL)	Micro-organismos / Diâmetro dos halos (mm)			
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P.</i>	<i>C.</i>
Solução da Quitosana	2%	10	0	0	0
	1%	8	0	0	0
	Ácido acético 1% (Controle)	0	0	0	0
	Gentamicina (GEN 10µg)	20	20	-	-
	Ciprofloxacino (CIP 30µg)	-	-	28	-
	Fluconazol (FLU 10µg)	-	-	-	25

(-) – Não testado

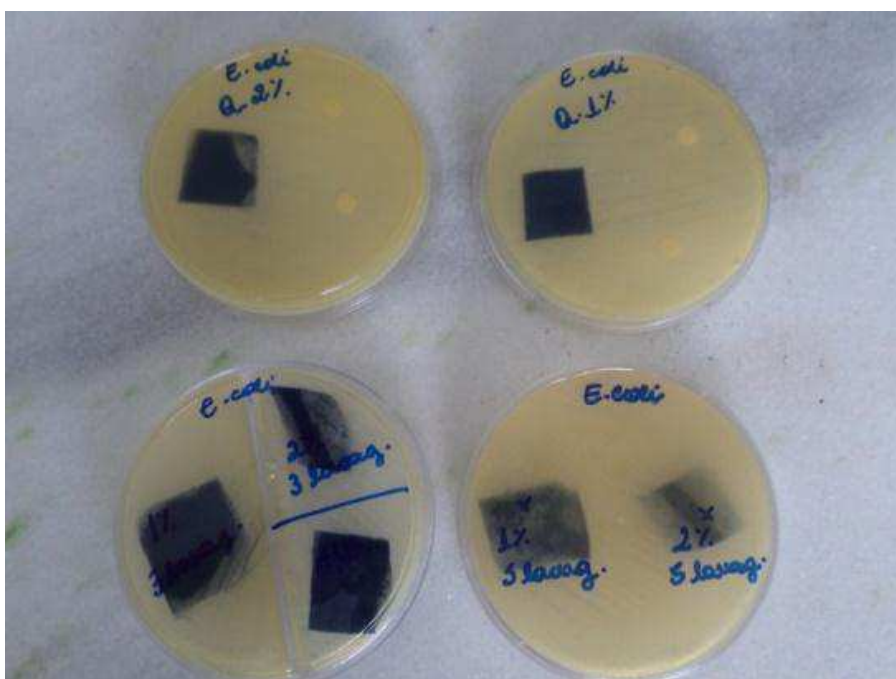
Foi possível verificar na Figura 27 que a solução de quitosana tanto na concentração de 2% quanto na de 1% colocada nos discos, apresentaram formação do disco de difusão, ou seja, atividade microbiana diante da cepa de *S. aureus* ATCC 25923 corroborando com Goy et al., (2009). Porém, não apresentaram atividade diante das demais cepas constantes na Tabela 13, divergindo de Goy et al., (2009) e Periolatto et al., (2012).

A Figura 27 ilustra a não formação da zona de inibição no contorno dos tecidos de algodão impregnados com quitosana a 1% e 2% frente a cepa de *S. aureus* ATCC 25923, bem como não há crescimento do microorganismo na superfície dos tecidos de algodão impregnados. Conforme norma ISO 20645:2004 - Textile fabrics -- Determination of antibacterial activity - Agar diffusion plate test, quando não há formação da zona de inibição (halo de difusão) pela possível não difusão da substância ativa (no caso a quitosana) e não há crescimento da cepa na superfície do tecido, o resultado pode ser classificado como bom efeito antimicrobiano.

Na Figura 28 estão ilustrados os resultados dos ensaios de Screening (disco difusão) para solução de quitosana 1% e 2% diluídas nos discos de papel de discos estéreis e para as amostras: de tecidos de algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) e

algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); frente a cepa *Escherichia coli* ATCC (25922).

Figura 28 – Resultado do ensaio: Screening (disco de difusão) de atividade antimicrobiana dos discos com solução de quitosana 1% e 2% e das amostras de tecidos de algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); frente a cepa *Escherichia coli* ATCC (25922).



Fonte: Própria

Na Figura 28, nota-se: Na amostra algodão+quitosana 1% não houve formação de zona de inibição em seu contorno, bem como não houve crescimento da cepa *E.coli* na sua superfície. Na amostra algodão+quitosana 2% não houve formação de zona de inibição em seu contorno e ocorreu crescimento da cepa *E.coli* em alguns pontos na sua superfície, podendo ser devido a pontos de falha da impregnação de quitosana nesta amostra. Verifica-se ainda que nas amostras de algodão+quitosa 1% e 2% submetidas a 3 ou 5 ciclos de lavagem e secagem que não houve formação de zona de inibição em seu contorno e ocorreu crescimento da cepa *E.coli* sobre todas as superfícies, caracterizando que houve perda de quitosana durante os processos de lavagem e secagem a que foram submetidas.

Os resultados frente aos microorganismos *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e *Candida albicans* ATCC (76645) foram similares aos resultados frente a *Escherichia coli* ATCC (25922).

No geral, as amostras de tecidos impregnados com quitosana nas concentrações 1% e 2%, e as submetidas a ciclos de lavagem e secagem, não apresentaram atividade diante das cepas testadas conforme ilustrados nas Figuras 27 e 28. Possivelmente não ocorreu a difusão no meio de cultura da quitosana impregnada nos tecidos, entretanto isto não quer dizer que os mesmos não possuem atividade antimicrobiana sendo necessário realizar novos testes com outras metodologias.

5.7.2 Determinação de atividade antimicrobiana de tecidos impregnados com Quitosana (por pour-plate)

Na Figura 29 (a) e (b) estão ilustrados os resultados dos ensaios de atividade antimicrobiana por “pour-plate” das amostras: tecidos de algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); frente a cepa *Escherichia coli* ATCC (25922).

Nas Figuras 29 (a), (b) e 30 (a) e (b) verifica-se que não houve crescimento dos microorganismos nas superfícies das amostras de tecidos. Conforme norma ISO 20645:2004 - Textile fabrics -- Determination of antibacterial activity - Agar diffusion plate test, quando não há formação da zona de inibição (halo de difusão) pela possível não difusão da substância ativa (no caso a quitosana) e não há crescimento da cepa na superfície do tecido, o resultado pode ser classificado como bom efeito antimicrobiano.

Figura 29 – Resultado do ensaio de atividade antimicrobiana de tecidos: (a) algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa *Escherichia coli* ATCC (25922); (b) algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa *Escherichia coli* ATCC (25922).



Fonte: Própria

Figura 30 – Resultado do ensaio de atividade antimicrobiana de tecidos: (a) algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853); (b) algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem) frente a cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853).



Fonte: Própria

Na Figura 30 (a) e (b) estão ilustrados os resultados dos ensaios de atividade antimicrobiana por “pour-plate” das amostras: tecidos de algodão+quitosana 1%; algodão+quitosana 1%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem); algodão+quitosana 1%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem);

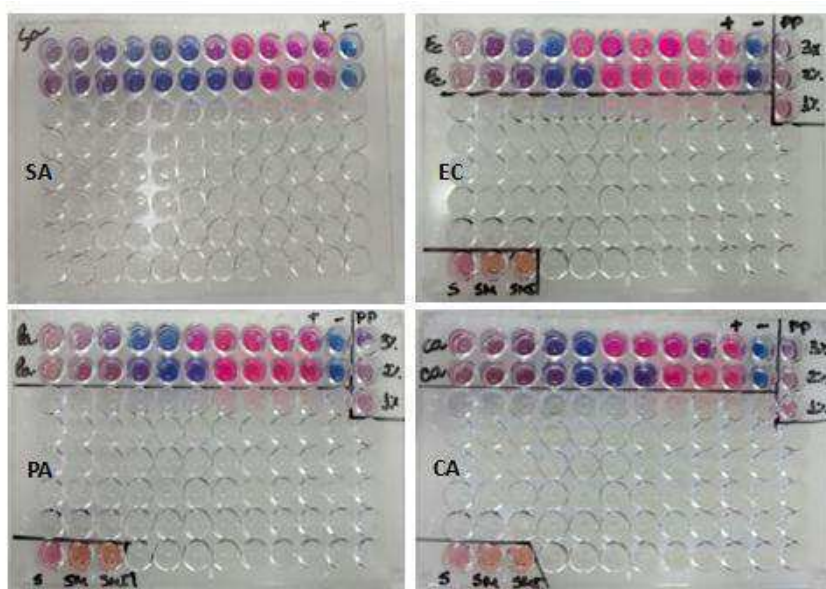
algodão+quitosana 2%; algodão+quitosana 2%+3L (submetida a 3 ciclos de lavagem) e algodão+quitosana 2%+5L (submetida a 5 ciclos de lavagem); frente a cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853).

Os tecidos impregnados com as diversas concentrações e lavagens de quitosana, não apresentaram atividade diante das cepas testadas também pela metodologia com semeio em pour-plate conforme verificado nas Figuras 29(a), 29(b), 30(a) e 30(b). Possivelmente não ocorreu a difusão no meio de cultura da quitosana impregnada nos tecidos, entretanto isto não quer dizer que os mesmos não possuem atividade antimicrobiana sendo necessário realizar novos testes com outras metodologias.

5.7.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) - (Microdiluição)

Na Figura 31 são ilustrados os resultados do ensaio de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da solução de quitosana.

Figura 31 – Resultados dos ensaios de Microdiluição com solução de Quitosana, onde: Sa = *Staphylococcus aureus* ATCC (25923), Ec = *Escherichia coli* ATCC (25922), Pa = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e Ca = *Candida albicans* ATCC (76645).



Fonte: Própria

Na Tabela 14 são ilustrados os resultados do ensaio de microdiluição de solução de quitosana e os valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) frente às cepas: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *C. albicans* ATCC 76645.

Tabela 14 – Atividade antimicrobiana de Quitosana por microdiluição em placa

Micro-organismos	Concentração inibitória mínima (CIM) da Quitosana	Concentração Bactericida mínima (CBM) da Quitosana
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,05%	0,1%
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,2%	0,4%
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,1%	0,2%
<i>C. albicans</i> ATCC 76645	0,1%	0,2%

Fonte: Própria

Verificou-se atividade antimicrobiana da solução de Quitosana partindo de uma concentração de 1,5%, conforme observado na Figura 31 e demonstrado na Tabela 14.

Com base nos resultados do ensaio de microdiluição foi possível verificar a quitosana tem o poder antimicrobiano para todas as cepas verificadas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados de DRX, FTIR, MEV/EDS e Intumescimento obtidos indicaram que todas as amostras foram impregnadas com quitosana tanto nas concentrações de 1% quanto na de 2%.

Os resultados de FTIR e de Intumescimento apresentados neste trabalho, indicam que a impregnação com quitosana a 2% apresentou-se maior estabilidade quando submetidas aos 5 ciclos de lavagem e secagem em relação às amostras impregnadas com quitosana 1%.

Pode-se dizer também que após os 5 ciclos de lavagem e secagem realizados, mesmo havendo perdas/desprendimento da quitosana, observou-se ainda a presença da quitosana nas amostras: Alg./Quit.1%/5L e Alg./Quit.2%/5L.

Visualmente verificou-se que as amostras preparadas e impregnadas com quitosana 1% apresentaram-se mais flexíveis e com distribuição de quitosana mais uniforme e homogênea na superfície do tecido de algodão do que as amostras impregnadas com quitosana 2% que apresentaram-se menos flexível. Contudo os resultados das caracterizações mostraram que a impregnação de quitosana da concentração de 2% foi mais resistente do que na concentração de quitosana a 1% quando submetidas aos processos de lavagem e secagem.

Conclui-se que as amostras de tecido de algodão impregnadas com quitosana nas concentrações de 1% e 2% não mantiveram as suas características físico químicas originais após os ciclos de lavagem e secagem a que foram submetidas, devido a perdas/desprendimento da quitosana impregnada no tecido.

Dos resultados do ensaio microbiológico, especificamente o de microdiluição, as soluções de quitosana 1% e 2% isoladamente apresentaram resultados satisfatórios frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC (25923), *Escherichia coli* ATCC (25922), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853) e *Candida albicans* ATCC (76645).

No geral, as amostras de tecidos impregnados com quitosana nas concentrações 1% e 2%, e as submetidas a ciclos de lavagem e secagem, não apresentaram atividade contra as cepas testadas. Possivelmente não ocorreu a difusão no meio de cultura da quitosana impregnada nos tecidos, entretanto isto

não quer dizer que os mesmos não possuem atividade antimicrobiana sendo necessário realizar novos testes com outras metodologias.

7 SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

Com os resultados obtidos, vislumbra-se dois caminhos a serem seguidos em trabalhos futuros:

1º) Criar/obter novas formas de impregnação mais efetivos e resistentes, como por exemplo realizar impregnação da quitosana ainda no preparo da fibra do algodão, possibilitando a formação de ligações químicas covalentes (mais fortes) entre a celulose das fibras do algodão com a quitosana, de forma a criar um composto polimérico mais resistente, atenuando o desprendimento de quitosana nos processos de lavagem e secagem.

2º) Desenvolver uma metodologia eficaz de impregnar quitosana em tecido SMS (Spunbonded – Meltblown - Spunbonded – Mais econômicos) a fim de criar aventais cirúrgicos antimicrobianos de uso único (descartáveis) e estéreis, bem como verificar se a nova metodologia será capaz de prover um produto com propriedades antimicrobianas em conformidade com a Norma ISO 20645:2004 - Textile fabrics -- Determination of antibacterial activity -- Agar diffusion plate test. Neste caminho, elimina-se o problema de perda da impregnação nos processos de lavagem visto que os aventais serão descartados logo após o procedimento cirúrgico.

REFERÊNCIAS

ABRAM, A. P.; HIGUERA, I. Quitina y quitosano: obtencion, caracterizacion y aplicaciones; ABRAM, A. P., ed.; Programa Cytel 2004, - Pontificia Universidad Catolica del Peru/Fondo Editorial: Lima, cap 1. 2004.

ABNT NBR 13734: Roupas Hospitalares – Características. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS.. Rio de Janeiro, 1996.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, v.2.3, pp. 27-34, 2007.

BARBOSA, R.C., Compósitos Quitosana/Carbonato de Cálcio para Utilização em Cânulas de Fístula Ruminal. 2011. 119f. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 2011.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American journal of clinical pathology, v. 45, n. 4, p. 493, 1966.

BRAGA, G. K. Determinação das especificações do processo de spray drying na obtenção de micropartículas biodegradáveis para a liberação sustentada de princípios ativos com aplicação odontológica. 2005. 82f. Dissertação (Fármacos e medicamentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, Ribeirão Preto – São Paulo.

BRASIL. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. Diário Oficial da União de 24.08.77. Poder Executivo, 1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 185, de 22 de outubro de 2001. Trata do registro, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos na Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União nº 212, Seção 1, p.25, de 06 de novembro. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 24, de 21 de maio de 2009. Estabelece o âmbito e a forma de aplicação do regime do cadastramento para o controle sanitário dos produtos para saúde. Diário Oficial da União nº 96, Seção 1, p.47, de 22 de maio. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 16, de 1 de abril de 2014. Dispõe sobre os Critérios para Peticionamento de Autorização de Funcionamento (AFE) e Autorização Especial

(AE) de Empresas. Diário Oficial da União nº 63, Seção 1, p.58, de 02 de abril. 2014.

CAETANO JÚNIOR, P.C.; LOBO, A.O. Quitosana como Biomaterial: Revisão de Literatura. In: XV INIC, XI EPG, V INIC Jr. São José dos Campos/São Paulo. 2011. www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/.../0131_0355_01.pdf.

CANELLA, K.M.N.C.; GARCIA, R. B.; Caracterização de quitosana por cromatografia de permeação em gel – influência do método de preparação e do solvente. Química Nova. v. 24, pp.13-17, 2001.

CAMPOS, M. G. N. Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana para recobrimento de feridas e liberação controlada de fármacos. 2007. 130f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Engenharia Química. Campinas - São Paulo.

CATÃO, R. M. R. Atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre bactérias e fungos leveduriformes. 2007, 127p. Tese (doutorado em Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). LTF/Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twentieth informational supplement. CLSI document M100-S20. CLSI, Wayne, PA, 2010.

COMA, V.; MARTIAL-GROS, A.; GARREAU, S.; COPINET, A.; SALIN, F.; DESCHAMPS, A.; Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. Journal of Food Science, v.67, pp. 1162-1169, 2002.

COSTA JÚNIOR, E.S. Desenvolvimento de matriz de Quitosana/PVA, quimicamente reticulado para aplicação potencial em engenharia de tecido epitelial. 2008. 151f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Minas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – Minas Gerais.

DE ANDRADE, D. ; E. L. ANGERAMI. Reflexões acerca das infecções hospitalares às portas do terceiro milênio. Medicina, v. 32, pp. 492-497, 1999.

GOY, R.C.; BRITTO, D.; ASSIS, O.B.G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. Polímeros: Ciência e Tecnologia, Vol. 19, n.3, pp 241-247, 2009.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes Têxteis. Química Nova. São Paulo, v. 23, n.1, pp.71-78, 2000.

HÖRNER, M.; GIGLIO, V.F.; SANTOS, A.J.R.W.A.; WESTPHALEN, A.B.; INGLESIAS, B.A.; MARTINS, P.R.; AMARAL, C.H.; MICHELOT, T.M.; REETZ, L.G.B.; BERTONCHELI, C.M.; PARAGINSKI, G.L.; HORNER, R. Triazenos e atividade antibacteriana. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.44, n.3, p.441-449, 2008.

ISO 20645:2004 - Textile fabrics -- Determination of antibacterial activity -- Agar diffusion plate test. International Standard Organization. 2004.

KONKEWICZ, L. R. (2008). Prevenção e controle de infecções relacionado ao processamento das roupas hospitalares. <www.cih.com.br/lavanderiahospitalar.htm> Acessado em 01/02/2014

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, v.46, pp.1-27, 2000.

LIMA, R. S. C. Desenvolvimento de Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos: Quitosana/Insulina. 2010. 112f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos). Curso de Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande. 2010.

LORIAN, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins: Baltimore, 1986

MATSUSHITA, A. F. Y.; INABA, J.; FUJIWARA, S. T.; WOHRNATH, K.; GARCIA, J. R.; PESSOA C. A. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata no polieletrólito cloreto de 3-N-Propilpiridínio Silsexquioxano para aplicações em materiais têxteis. *Publicação UEPG-Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias*, v. 18, n. 1, p. 39-50, 2013.

MELO, F. M. A., Preparação e caracterização de nanocompósitos quitosana/bentonita, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais e Metalurgia), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – Paraíba.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J Biol.*; v. 31, p.53, 2007.

PERIOLATTO, M; FERRERO, F.; VINEIS, C. Antimicrobial chitosan finish of cotton and silk fabrics by UV-curing with 2-hydroxy-2-methylphenylpropane-1-one. *Carbohydrate Polymers*, v.88, ed.1, pp. 201-205, 2012.

PONCIANO, J. J. In: Desenvolvimento de membranas bioabsorvíveis com variado nível de orientação molecular para aplicação como biomaterial. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010.

RABEA E.I.; BADAWY, M.E.; STEVENS, C.V.; SMAGGHE, G.; STEUBAUT, W. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, v.4, pp 1457-1465, 2003.

ROBERTS, G. A. F. *Chitin chemistry*, 1992. MacMillan Press Ltd: London.

SILVA, R.; HARAGUCHI, S.K.; MUNIZ, E.C.; RUBIRA, A.F. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. *Química. Nova*, Vol. 32, n.3, 2009.

SONESSO, M. F. C., Obtenção e caracterização de nanocristais de celulose a partir de algodão cru e polpa kraft. 2011, 111f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.2011.

SOUSA, W. J. B., Desenvolvimento de Filmes Híbridos de Quitosana/Fosfato de Cálcio com Incorporação de Vitamina E. 2012, 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Programa de Pós Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG. 2012.

SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R.M.; MARCANTONIO-JR, E. Chitosan based biomaterials with medical and dental application: literature review. *Revista de Odontologia UNESP.*, v. 37, pp. 155-161, 2008.

TEIXEIRA, Eliangela de M. et al. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. *Polímeros [online]*. 2010, vol.20, n.4, pp. 264-268. Epub Nov 12, 2010. ISSN 0104-1428.

TENG, L. W.; KHOR, E.; TAN, T. K.; LIM, L. Y.; TAN, S. C. Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. *Carbohydrate Research*, v.332, pp.305-316, 2001.

TREKLE, A.M.; THOM, K.A.; FURUNO, J.P.; STRAUSS, S.M.; HARRIS, A.D.; PERENCEVICH, E.M. Bacterial contamination of health care workers' white coats. *American Journal of Infection Control.* ; v.37, ed.2, pp.101-105, 2009.

URAGAMI T.; TOKURA S, (eds.) *Material Science of Chitin and Chitosan*, Japan: Kodansha Ltd., Springer, 2006.

VIEIRA, R. Estudo da eficiência e durabilidade de diversos métodos de fixação de produtos antimicrobianos em fibras celulósicas. 2006. 128f. Dissertação (Mestrado em Química Têxtil), Universidade do Minho, Portugal.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO guidelines on hand hygiene in health care. Geneva, 2009.

ZORNIO, C.F., Preparação e Caracterização do Complexo de Inclusão β -ciclodextrina/(z)-jasmona e da fibra de algodão enxertada com β -ciclodextrina. 2013, 127f. Dissertação (Mestrado em Química), Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. 2013.