

**UNIVERSIDADE DE SANTA CRUZ DO SUL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE**  
**MESTRADO E DOUTORADO**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PROMOÇÃO DA SAÚDE**

Betina Brixner

**INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE  
CATETER: epidemiologia e desenvolvimento de uma cobertura biodegradável  
preventiva**

Santa Cruz do Sul

2023

Betina Brixner

**INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE  
CATETER: epidemiologia e desenvolvimento de uma cobertura biodegradável  
preventiva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Promoção da Saúde – Doutorado, Área de Concentração em  
Promoção da Saúde, Linha de Pesquisa em Vigilância em  
Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Dagmar Pollo Renner  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Liliane Damaris Pollo  
Colaboradora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Chana de Medeiros da Silva

Santa Cruz do Sul

2023

### CIP - Catalogação na Publicação

Brixner, Betina

INFEÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE CATETER:  
epidemiologia e desenvolvimento de uma cobertura biodegradável  
preventiva / Betina Brixner. – 2023.

113 f. : il. ; 28 cm.

Tese (Mestrado em Promoção da Saúde) – Universidade de Santa  
Cruz do Sul, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Jane Dagmar Pollo Renner.

Coorientação: Profa. Dra. Liliane Damaris Pollo.

1. Infecções Relacionadas a Cateter. 2. Produtos com Ação  
Antimicrobiana. 3. Quitosana. 4. Óleos Essenciais. I. Renner,  
Jane Dagmar Pollo. II. Pollo, Liliane Damaris. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UNISC  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Betina Brixner

**INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE  
CATETER: epidemiologia e desenvolvimento de uma cobertura biodegradável  
preventiva**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Doutorado, Área de Concentração em Promoção da Saúde, Linha de Pesquisa em Vigilância em Saúde, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito para obtenção do título de Doutora em Promoção da Saúde.

**Banca Examinadora**

Dr<sup>a</sup>. Jane Dagmar Pollo Renner  
Professora Orientadora – UNISC

Dr<sup>a</sup>. Liliane Damaris Pollo  
Professora Coorientadora – UFRGS

Dr<sup>a</sup>. Chana de Medeiros da Silva  
Professora Colaboradora – UNISC

Dr. Valeriano Antonio Corbellini  
Professor Examinador – UNISC

Dr. Suélia de Siqueira Rodrigues Fleury Rosa  
Professor Examinador – UnB - FGA

Dr. Nilo Sergio Medeiros Cardozo  
Professor Examinador – UFRGS

Dr. Paula Bettio Staudt  
Professor Examinador – UFRGS

Santa Cruz do Sul

2023

*Aos meus pais, pelo apoio e por sempre serem o meu alicerce em todas as fases da minha vida.  
Amo vocês!*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Pedro e Maria de Lourdes Brixner, por estarem sempre presentes em todos os momentos da minha vida. Agradeço pelo o amor, carinho e apoio incondicional a mim sempre depositado. Essa conquista é nossa!

À minha irmã, Danielle Brixner, por todo amor, amizade e apoio emocional.

Ao meu amor, Leonardo Moreira Dias, por compreender minha ausência em alguns momentos durante esse período do doutorado. Agradeço por todo amor, carinho e respeito que tem por mim!

À minha orientadora, Jane Dagmar Pollo Renner, a minha “mãe da Unisc”, por novamente estar acreditando no meu potencial. Por sempre me incentivar e estar ao meu lado durante toda a minha vida acadêmica. Muito obrigada pela parceria e amizade! Continuo me espelhando e aprendendo muito com você.

À minha coorientadora, Liliane Damaris Pollo, por aceitar a me ajudar, com sua vasta experiência, desde o início deste projeto de pesquisa.

À colaboradora, Chana de Medeiros da Silva, pelo auxílio, apoio e dedicação.

À professora Janice Hamm, pela troca de conhecimentos e ajuda durante o período de realização do trabalho.

A todos os alunos e bolsistas que trabalharam nesse projeto. O auxílio de vocês foi essencial para a realização desse trabalho. Muito obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde, pela concessão da bolsa de estudo.

Por fim. Agradeço à Deus e a Nossa Senhora, por estarem sempre ao meu lado, me protegendo, abençoando e iluminando. Obrigada por me guiar nessa trajetória e não deixar que eu desanime frente aos obstáculos e dificuldades da vida.

*O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.*

(JOSÉ DE ALENCAR)

## RESUMO

Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são um problema de saúde pública, em que muitas delas podem estar relacionadas aos casos de procedimentos invasivos, como as infecções de corrente sanguínea relacionada ao cateter (ICSRC), aumentando os casos de morbidade e mortalidade. Além disso, outra dificuldade enfrentada pelas instituições de saúde são o volume excessivo de resíduos gerados, acarretando em uma problemática ambiental. Visando minimizar estes problemas, este trabalho tem como foco o desenvolvimento de novos materiais biodegradáveis utilizando substâncias naturais promissoras, como o biopolímero de quitosana e os óleos essenciais, ambos já conhecidos pelas suas atividades biológicas e antimicrobianas. Diante do exposto, o objetivo desta tese é estudar a epidemiologia das ICSRC e desenvolver uma cobertura antimicrobiana e biodegradável para cateter. No **Artigo I**, apresentam-se os resultados das ICSRC em pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neopediátrica, em que foi possível analisar o perfil epidemiológico e fatores de risco relacionados à infecção. Foi realizado um levantamento dos dados epidemiológicos e microbiológicos dos pacientes neopediátricos (<1 ano de idade), através do prontuário eletrônico do paciente e dos registros da comissão de controle de infecção. Dentre os resultados encontrados, 53,2 % eram do sexo masculino, 98,7 % apresentavam faixa etária de 0-28 dias, 57,2 % pesaram entre 751 - 1.500 gramas ao nascer e 76,6 % nasceram com idade gestacional inferior a 34 semanas, em que 93,5 % foram considerados prematuros. Dos casos de ICSRC, 57,1 % estavam utilizando algum tipo de cateter por um período de até 30 dias. A bactéria mais associada a essa IRAS foi o *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN), presente em 58,6 % dos casos, sendo 91,4 % resistentes à oxacilina. Por fim, foi possível identificar o perfil epidemiológico das ICSRC na UTI Neopediátrica, sendo os pacientes do sexo masculino, de baixo peso ao nascer e prematuros, os mais acometidos por esta IRAS. Além disso, a bactéria patogênica mais isolada nas culturas foi o SCoN. O **Artigo II** trata-se de uma revisão da literatura que busca verificar os métodos utilizados para analisar a atividade antimicrobiana e seus resultados frente aos microrganismos, em biomateriais à base de quitosana associado a óleos essenciais, para aplicação biomédica. A busca dos artigos foi realizada nas bases de dados PubMed e *Science Direct*, publicados no período de 2018 a 2022, a qual resultou em um total de 305 artigos que, após os critérios de exclusão, foram incluídos oito artigos. Ainda, os mesmos foram separados em três categorias, conforme o produto final, em: (1) filme; (2) criogel e; (3) *scaffolds* nanofibrosos. Foi possível identificar, independentemente do produto final, duas técnicas para a realização do ensaio da atividade antimicrobiana: (1) teste de difusão em ágar e (2) concentração inibitória/microbicida mínima. Dos estudos, seis deles utilizaram o método de difusão em ágar, ensaio amplamente conhecido e utilizado em laboratórios de microbiologia. Em relação à zona de inibição, seis estudos testaram o biomaterial de quitosana sem adição dos óleos essenciais, em que somente um deles não apresentou inibição para microrganismos testados. Quando incorporados os óleos essenciais, verificou-se que houve sinergismo da ação antimicrobiana frente às cepas testadas. Esses resultados confirmam que os biomateriais à base de quitosana, incorporados a diferentes óleos essenciais, são promissores para aplicabilidade biomédica. No **Artigo III** é apresentado os resultados das propriedades físico-químicas e antimicrobianas da cobertura composta de quitosana associada aos óleos essenciais. Os compostos majoritários para os óleos essenciais de *Citrus reticulata*, de *Eugenia caryphyllus* e de *Origanum vulgare* foram, respectivamente, o limoneno, o eugenol e o carvacrol, caracterizados por cromatografia gasosa. As coberturas desenvolvidas apresentaram-se maleáveis e transparentes, com coloração específica de acordo com o óleo essencial utilizado.



Através da análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das coberturas, foram identificadas bandas específicas da quitosana, em que as mesmas sofreram poucas alterações após a adição dos óleos essenciais. A morfologia das coberturas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e se mostraram homogêneas, exceto para os óleos essenciais de *E. caryophyllus* e de *O. vulgare* que foi observado a separação de fases polímero/óleo. Em relação às análises antimicrobianas, foi possível identificar um efeito sinérgico nas emulsões filmogênicas quando os óleos essenciais foram incorporados à solução de quitosana pura. Em relação à zona de inibição, para as emulsões filmogênicas contendo óleo essencial de *C. reticulata*, a maior zona identificada foi na concentração de 2 % (v/v), enquanto que para as associações com o óleo essencial de *E. caryophyllus* e de *O. vulgare*, os melhores resultados foram obtidos para a concentração de 3 % (v/v), frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Candida tropicalis*. Já para os filmes, a atividade antimicrobiana foi observada para a associação com os óleos de *E. caryophyllus* 2 % (v/v) e de *O. vulgare* 1 a 3 % (v/v), exceto para *E. coli*, que não foi observado halo de inibição, porém não houve crescimento antimicrobiano abaixo dos filmes. Esse resultado se repetiu, para as demais concentrações, nos filmes contendo óleo essencial de *C. reticulata* e de *E. caryophyllus*, frente aos microrganismos testados. Diante do exposto, foi possível desenvolver uma cobertura antimicrobiana com potencial aplicação em coberturas de cateteres.

**Palavras-chave:** Infecções Relacionadas a Cateter; Produtos com Ação Antimicrobiana; Quitosana; Óleos Essenciais.

## ABSTRACT

Health Care-Related Infections (HCAI) are a public health problem in that they can be related to cases invasive procedures, such as catheter-related infections of real procedures (CRBSI), increasing complications of morbidity and mortality. In addition, other difficulties generated by health institutions are faced by the altered volume of environmental problems. In order to minimize these problems, this work focuses on development new biodegradable materials using promising substances, such as the biopolymer of both natural products and essential oils, already known for their biological and antimicrobial activities. Given the above, the objective of this thesis is to study the epidemiology of CRBSI and develop an antimicrobial and biodegradable catheter cover. In **Article I**, the results of CRBSI in patients admitted to the Neopediatric Intensive Care Unit (ICU) are presented, in which it was possible to analyze the epidemiological profile and risk factors related to the infection. A survey of the epidemiological and microbiological data of the neopediatric patients (<1 year of age) was carried out through the patient's electronic medical record and the records of the infection control commission. Among the results found, 53.2 % were male, 98.7 % were aged between 0-28 days, 57.2 % weighed between 751 - 1,500 grams at birth and, 76.6 % were born with a gestational age below 34 weeks, in which 93.5 % were considered premature. Of the cases of CRBSI, 57.1% were using some type of catheter for a period of up to 30 days. The bacterium most associated with this HAI was coagulase-negative *Staphylococcus* (CoNS), present in 58.6 % of the cases, 91.4 % of which were resistant to oxacillin. Finally, it was possible to identify the epidemiological profile of CRBSI in the Neopediatric ICU, with male, low birth weight and premature patients being the most affected by this HAI. In addition, the most isolated pathogenic bacterium in cultures was CoNS. **Article II** is a literature review that seeks to verify the methods used to analyze the antimicrobial activity and its results against microorganisms in chitosan-based biomaterials associated with essential oils for biomedical application. The search for articles was performed in the PubMed and Science Direct databases, published from 2018 to 2022, which resulted in a total of 305 articles that after, the exclusion criteria, eight articles were included. Also, they were separated into three categories, according to the final product, in: (1) film; (2) cryogel and; (3) nanofibrous scaffolds. It was possible to identify, regardless of the final product, two techniques for performing the antimicrobial activity assay: (1) agar diffusion test and (2) minimum inhibitory/microbicide concentration. Of the studies, six of them used the agar diffusion method, an assay widely known and used in microbiology laboratories. Regarding the zone of inhibition, six studies tested the chitosan biomaterial without the addition of essential oils, in which only one of them showed no inhibition for tested microorganisms. When the essential oils were incorporated, it was verified that there was synergism of the antimicrobial action against the tested strains. These results confirm that chitosan-based biomaterials, incorporated into different essential oils, are promising for biomedical applicability. **Article III** results of the physicochemical and antimicrobial properties of the covering composed of chitosan associated with essential oils are presented. The major compounds for the essential oils of *Citrus reticulata*, *Eugenia caryphyllus* and *Origanum vulgare* were, respectively, limonene, eugenol and carvacrol, characterized by gas chromatography. The developed covers were malleable and transparent, with specific coloring according to the essential oil used. Through Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis of the coatings, specific chitosan bands were identified, in which they underwent few changes after the addition of essential oils. The morphology of the coverings was evaluated by scanning electron microscopy (SEM) and they were shown to be homogeneous, except for the

essential oils of *E. caryophyllus* and *O. vulgare*, where the separation of polymer/oil phases was observed. Regarding the antimicrobial analyses, it was possible to identify a synergistic effect in the filmogenic emulsions when the essential oils were incorporated into the pure chitosan solution. Regarding the zone of inhibition, for the filmogenic emulsions containing essential oil of *C. reticulata*, the largest zone identified was in the concentration of 2 % (v/v), while for the associations with the essential oil of *E. caryophyllus* and of *O. vulgare*, the best results were obtained at a concentration of 3 % (v/v), against strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Candida tropicalis*. As for the films, the antimicrobial activity was observed for the association with *E. caryophyllus* 2 % (v/v) and *O. vulgare* 1 to 3 % (v/v) oils, except for *E. coli*, which did not inhibition halo was observed, but there was no antimicrobial growth below the films. This result was repeated, for the other concentrations, in the films containing essential oil of *C. reticulata* and *E. caryophyllus*, against the microorganisms tested. Given the above, it was possible to develop an antimicrobial cover with potential application in catheter covers.

**Keywords:** Catheter-Related Infections; Products with Antimicrobial Action; Chitosan, Essential oils.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### ILUSTRAÇÕES DA TESE

**Figura 1** - Estrutura da parede celular de bactérias Gram positivas.

**Figura 2** - Estrutura da parede celular de bactérias Gram negativas.

**Figura 3** - Produto de quitosana obtido da desacetilação da quitina.

**Figura 4** - Estruturas químicas do limoneno (1) e do linalol (2).

**Figura 5** - Estruturas químicas do eugenol (1) e do  $\beta$ -cariofileno (2).

**Figura 6** - Estruturas químicas do carvacrol (1) e do timol (2).

### ILUSTRAÇÕES DO ARTIGO II

**Figura 1** - Fluxograma da seleção dos artigos

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

### **QUADRO DA TESE**

**Quadro 1** – Alguns estudos de ICS relacionada ao uso de cateter.

**Quadro 2** – Alguns estudos demonstrando a utilização de polímeros de quitosana contendo óleos essenciais na prática clínica.

### **TABELAS DO ARTIGO I**

**Tabela 1** – Comparação das características da gestação e dos pacientes neopediátricos com diagnóstico de ICSRC em relação ao sexo.

**Tabela 2** – Comparação das características de peso ao nascer, tempo de uso do cateter e desfecho clínico em relação ao parto prematuro de paciente com diagnóstico de ICSRC.

**Tabela 3** – Perfil dos isolados bacterianos das culturas relacionadas ao uso de cateter.

### **QUADRO DO ARTIGO II**

**Quadro 1** - Síntese de informações, métodos, resultados e principais conclusões da atividade antimicrobiana contidos nos artigos incluídos no estudo.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCIH	Comissão de Controle de Infecção Hospitalar
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CMM	Concentração Microbicida Mínima
cm	centímetro
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ESBL	$\beta$ -lactamase de Espectro Estendido
ICSRC	Infecção de corrente sanguínea relacionada ao cateter
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde
kg	quilograma
mL	mililitro
mm	milímetro
MRSCoN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa meticilina resistente
OE	Óleo Essencial
PAGU	Sistema de Gerenciamento de Unidades
pH	Potencial hidrogeniônico
PSIH	Sistema de Controle de Infecção Hospitalar
PVA	Álcool Polivinílico
SCoN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UNISC	Universidade de Santa Cruz do Sul
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
UTIN	Unidades de Terapia Intensiva Neonatal
UTI-NEOPED	Unidades de Terapia Intensiva Neopediátrica
v	volume

## LISTA DE SÍMBOLOS

<	Menor
±	Maior ou menor
®	Marca registrada
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	16
<b><u>CAPÍTULO I</u></b>	
<b>INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>17</b>
1. INTRODUÇÃO.....	18
2. PREVENÇÃO DE IRAS NO USO DE DISPOSITIVO MÉDICO INVASIVO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DE COBERTURAS ANTIMICROBIANAS.....	20
3. OBJETIVOS.....	35
<b><u>CAPÍTULO II</u></b>	
<b>ARTIGOS.....</b>	<b>36</b>
ARTIGO I –.....	37
ARTIGO II –.....	50
ARTIGO III .....	65
<b><u>CAPÍTULO III</u></b>	
<b>CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>67</b>
<b><u>CAPÍTULO IV</u></b>	
<b>NOTA À IMPRENSA.....</b>	<b>70</b>
<b><u>CAPÍTULO V</u></b>	
<b>RELATÓRIO DE CAMPO.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXOS</b>	
ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética.....	91
ANEXO B – <i>Checklist</i> para coleta de dados epidemiológicos.....	96
ANEXO C – Comprovante do protocolo de pedido de patente.....	97
ANEXO D – Aceite do artigo na Revista Saúde (Santa Maria).....	102
ANEXO E – Aceite do artigo na Revista <i>Research, Society and Development</i> .....	103
ANEXO F – Normas para publicação na Revista <i>Materials (Basel)</i> .....	104



## APRESENTAÇÃO

A presente tese está em conformidade com o Regimento do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul. A mesma encontra-se estruturada em seis partes: Introdução, objetivos e marco teórico; três artigos, em que dois são artigos científicos originais e um artigo de revisão; conclusões gerais; nota à imprensa com divulgação da importância desta pesquisa e seus principais achados; relatório do trabalho de campo; e anexos.

O artigo I apresentado nesta tese é intitulado “Epidemiologia e fatores de risco para o desenvolvimento de infecção de corrente sanguínea relacionada ao uso de cateter em uma UTI neopediátrica no Sul do Brasil” (publicado na Revista Saúde (Santa Maria) - DOI: <https://doi.org/10.5902/2236583470691>), o artigo II é intitulado “Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa” (publicado na Revista Research, Society and Development – DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36563>) e o artigo III é intitulado “*Antimicrobial Activity in vitro of Chitosan Emulsions and Films containing Essential Oils for Use in Catheter Coverings*”, que será submetido para a Revista *Materials (Basel)*.

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E MARCO TEÓRICO**

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são consideradas um grande problema de saúde pública e são reconhecidas por causar graves complicações de saúde para o paciente hospitalizado, aumentando as taxas de morbimortalidade e os custos adicionais relacionados à internação (KOLLEF et al., 2021; LIU; DICKTER, 2020). Pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI) apresentam maior propensão de adquirir algum processo infeccioso, seja pelo seu quadro clínico crítico e/ou pelas intervenções médicas realizadas (BUETTI; TIMSIT, 2019; ELNASSER; OBAIDAT; AMARIN, 2021; YUE et al., 2017). Desta última, destaca-se o uso de dispositivos médicos invasivos, uma vez que podem estar relacionados a diversos casos de IRAS (ELNASSER; OBAIDAT; AMARIN, 2021; ZIPURSKY et al., 2019). As taxas de infecções da corrente sanguínea (ICS) podem alcançar índices de até 90 % quando relacionadas ao uso de cateter venoso central (WU et al., 2021). Além disso, as ICS decorrentes do uso de cateter podem ocasionar desfechos clínicos desfavoráveis, principalmente em população imunocomprometida, tais como em pacientes geriátricos, oncológicos e diabéticos (LEE et al., 2019).

Considerando que as IRAS são preocupantes, as instituições hospitalares vêm adotando sistemas de prevenção de infecções, conhecidos como *bundle*, relacionados ao uso de cateter, a fim de garantir a segurança do paciente internado (BIERLAIRE et al., 2021; RAY-BARRUEL et al., 2019; MANZO et al., 2022). Desta maneira, uma estratégia para reduzir os casos de IRAS relacionadas ao uso de cateteres é garantir que o local de implementação do mesmo seja apropriadamente protegido, com o intuito de prevenir infecções, bem como de assegurar que não ocorra movimentação interna e externa do dispositivo (CORLEY et al., 2022; GRAVANTE et al., 2020; ULLMAN; COOKE; RICHARD, 2015).

Historicamente, os locais de inserção do cateter eram cobertos com gaze e fitas adesivas estéreis, porém, em meados dos anos 80, curativos à base do polímero poliuretano começaram a ser utilizados (GHOMI et al., 2019; WEBSTER et al., 2011). O poliuretano é um polímero frequentemente utilizado na fabricação de curativos comercialmente conhecidos, devido às suas propriedades de barreira e permeabilidade ao oxigênio (MARCANO et al., 2022; WEBSTER et al., 2011). No ambiente hospitalar esse material é amplamente utilizado na fabricação de fixadores adesivos para cateter, em que a clorexidina é o agente antimicrobiano mais utilizado como coadjuvante na prevenção das ICS relacionadas ao uso de dispositivo médico invasivo (EGGIMANN et al., 2018; GILARDI et al., 2021).

Apesar da eficiência destes curativos disponíveis comercialmente, há uma problemática ambiental associada ao descarte destes materiais contaminados. Sabe-se que, com o aumento da população e do número de internações nas unidades de saúde, a geração de resíduos hospitalares aumentou significativamente, principalmente devido ao uso de produtos médicos descartáveis (ALI et al., 2017; MANZOOR, J.; SHARMA et al., 2019; ZAMPARAS et al., 2019). Segundo o Plano Estadual de Resíduos Sólidos do Rio Grande do Sul 2015-2034 (PERS-RS, 2014), a estimativa em 2014 era de 48.247,21 toneladas/ano de lixo hospitalar gerado, seguindo de estimativas de 58.256 toneladas para 2023 e 68.122 toneladas em 2034. Esses dados demonstram a importância das instituições de saúde em desenvolver planos e políticas para a gestão e eliminação adequada, em virtude do valor gasto para o tratamento destes resíduos provenientes de serviços de saúde (ALI et al., 2017; UEHARA; VEIGA; TAKAYANAGUI, 2019).

Uma alternativa ao uso de polímeros e agentes sintéticos é o desenvolvimento de um material com características biodegradáveis para a fabricação de coberturas para cateter. Um material promissor que pode ser utilizado é a quitosana, um polímero natural, biodegradável e com propriedades antimicrobianas que pode ser facilmente processado na forma de filmes, géis, nanopartículas e outros; podendo ser utilizado em aplicações com a finalidade de cicatrizar feridas (ILYAS et al., 2022; MATICA et al., 2019). Aliado aos polímeros, existem compostos orgânicos que apresentam propriedades antimicrobianas promissoras para o desenvolvimento de novas tecnologias (ANTUNES et al., 2021; DE LUCA et al., 2021). Como exemplo orgânico tem-se os óleos essenciais de bergamota (*Citrus reticulata*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*) e orégano (*Origanum vulgare*), todos com conhecidos efeitos benéficos para a saúde, uma vez que apresentam atividade antimicrobiana frente a bactérias e fungos e também combatem vírus (DAHIRU; PALIWAL, 2021; DENKOVA-KOSTOVA et al., 2021; DOSOKY; SETZER, 2018; QUIRINO et al., 2022; SOLTANI et al., 2021; UNALAN et al., 2019).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo responder os **problemas de pesquisa**: os fatores de risco possuem relação com a taxa desta IRAS na população neonatal, internada em UTI? O biopolímero de quitosana contendo óleos essenciais de bergamota, cravo-da-índia e orégano apresentam características de compatibilidade para atuar na prevenção de IRAS relacionadas ao uso de dispositivos médicos invasivos?

## **2 PREVENÇÃO DE IRAS NO USO DE DISPOSITIVO MÉDICO INVASIVO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DE COBERTURAS ANTIMICROBIANAS**

Diversos estudos vêm demonstrando o importante cenário relacionado aos problemas de saúde pública causados pelas IRAS hospitalares, ameaçando diretamente a segurança dos pacientes (BUETTI; TIMSIT, 2019; ELNASSER; OBAIDAT; AMARIN, 2021; JIA et al., 2019; KOLLEF et al., 2021; LIU; DICKTER, 2020; MANZO et al., 2022). Diante deste desafio, novas tecnologias vêm sendo estudadas com o intuito de prevenir e/ou tratar os processos infecciosos, causados por bactérias e fungos, utilizando polímeros, biodegradáveis e sustentáveis, com atividade antimicrobiana (ILYAS et al., 2022; KHODABAKHSHI et al., 2019; MATICA et al., 2019; SANTOS et al., 2019; UNALAN et al., 2019).

### **2.1 Segurança do paciente na prevenção e controle de IRAS**

O desafio global de tratar e cuidar dos pacientes protegendo-os de danos evitáveis relacionados à saúde é a principal prioridade nos ambientes hospitalares, em que a segurança do paciente se tornou um dos princípios fundamentais para os cuidados de saúde (MCALEARNEY et al. 2022; WHO, 2021; 2016). Sua implementação envolve um conjunto de estratégias e intervenções, capazes de prevenir e/ou reduzir ao mínimo aceitável os riscos e/ou danos ao paciente (AGHDASSI, et al., 2019; VAN ROSSE et al., 2016; WHO, 2021).

Desta maneira, a segurança do paciente vem sendo trabalhada com o intuito de trazer mais qualidade nos serviços hospitalares prestados. Dentre esses serviços, cita-se o controle e prevenção das IRAS, uma vez que o risco de desenvolvimento de infecções nosocomiais é elevado nessas instituições de saúde (MCALEARNEY et al. 2022; SILVA et al., 2018). Estas infecções afetam não somente os pacientes, mas também os profissionais e o sistema de saúde como um todo e estão diretamente relacionadas ao aumento da morbidade e mortalidade, tempo de internação hospitalar prolongado, elevação das despesas relacionadas aos cuidados em saúde e aumento da resistência aos medicamentos antibióticos (VALLE et al., 2016; ELNASSER; OBAIDAT; AMARIN, 2021; MANOUKIAN et al., 2021; OSME et al., 2021).

Diante deste cenário, o uso de antibioticoterapia adequada e racional é uma estratégia muito importante para a segurança dos pacientes. Por meio da escolha correta do antimicrobiano consegue-se evitar o surgimento de cepas resistentes, controlar as IRAS e garantir o prognóstico favorável dos pacientes (BUNGAU et al., 2021; KUBES; FRIDKIN, 2019; LAU et al., 2017; SALZO et al., 2021).

Além disso, visando minimizar os casos de infecções nosocomiais e garantir a segurança dos pacientes, *bundles* de prevenção são praticados, principalmente nas unidades de cuidado críticos de saúde (ALP et al., 2019; BIERLAIRE et al., 2021; MANZO et al., 2022; VICENTE-SÁNCHEZ et al., 2022; ZHOU et al., 2021). Estes pacotes de prevenção são bem descritos na literatura, seja para prevenção de IRAS em sítios específicos, como nas pneumonias associadas à ventilação mecânica (ALECRIM et al., 2019; VITALI et al., 2019), nas infecções de sítio cirúrgico (KRITIKOU et al., 2019; VICENTE-SÁNCHEZ et al., 2022) e naquelas associadas ao uso de cateteres (BIERLAIRE et al., 2021; RAY-BARRUEL et al., 2019; MANZO et al., 2022); bem como na limpeza de superfícies inanimadas e equipamentos (RUTALA; WEBER, 2019) e higienização das mãos (BOYCE et al., 2019; KILPATRICK et al., 2019).

## 2.2 Microbiota da pele

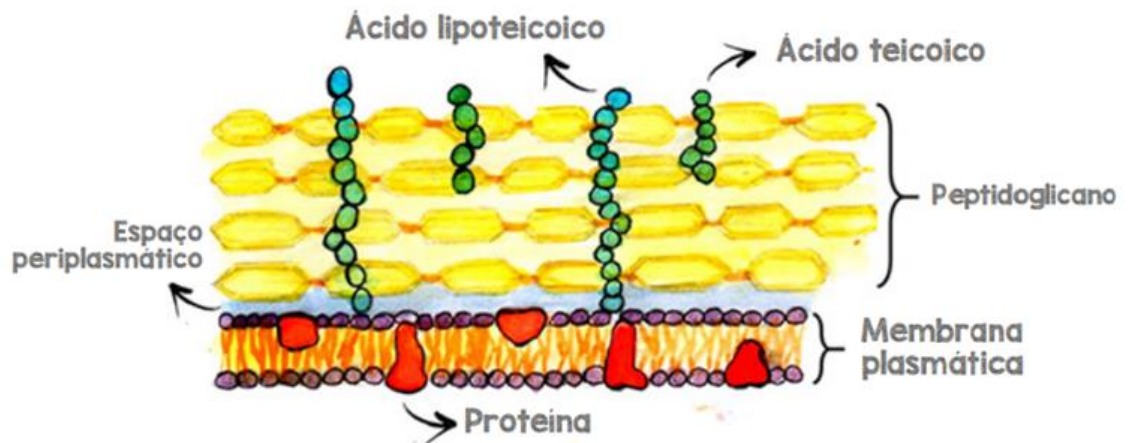
A interação entre hospedeiro e microbiota é reconhecida como um fator chave para a manutenção homeostática. Sendo assim, a microbiota comensal desempenha um papel fundamental na indução, educação e função do sistema imunológico, atuando no controle da fisiologia do hospedeiro, seja na proteção contra doenças ou no crescimento elevado de microrganismos patogênicos (BELKAID; HARRISON, 2017; McCOY; BURKHARD; GEUKING, 2019).

A pele, um dos maiores e mais versáteis órgãos do corpo humano, é amplamente colonizada por uma microbiota diversa e ativa na sua parte externa, desempenhando importante função para saúde. Apesar de ser responsável pela proteção, o microbioma cutâneo é responsável por causar diversas doenças de pele graves e desempenha um papel importante nas infecções de ferida da pele (EGERT; SIMMERING, 2016; EGERT; SIMMERING; RIEDEL, 2017; JOHNSON et al., 2018; LUNJANI; HLELA; O'MAHONY, 2019). Além disso, microrganismos da pele, em particular nas mãos, são cruciais para o campo da pesquisa em higiene, uma vez que podem ser fontes de contaminação cruzadas, principalmente no ambiente hospitalar (EGERT; SIMMERING; RIEDEL, 2017; BOYCE et al., 2019).

Bactérias Gram positivas possuem parede celular (Figura 1), composta por inúmeras camadas de peptidoglicano, formando uma estrutura espessa (BRIXNER et al., 2019). O *Staphylococcus aureus* é um exemplo de bactérias Gram positivas que colonizam a pele, pertencente à família Staphylococcaceae, as quais são cocos gram-positivos, catalase-positivos, que se organizam de diferentes formas. Apesar de estar presente na microbiota normal, são considerados importantes patógenos nos seres humanos, sendo responsáveis por diversas infecções cutâneas oportunistas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017a; WILLIAMS;

NAKATSUJI; GALLO, 2017). O *Staphylococcus* coagulase negativa (SCoN), também pertencente a mesma família, é encontrado na microbiota normal, possuindo grande importância médica, devido serem reconhecidos como microrganismos essencialmente oportunistas, que se prevalecem de inúmeras situações orgânicas para produzir graves infecções (LEVINSON, 2010a; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017a).

**Figura 1 - Estrutura da parede celular de bactérias Gram positivas.**



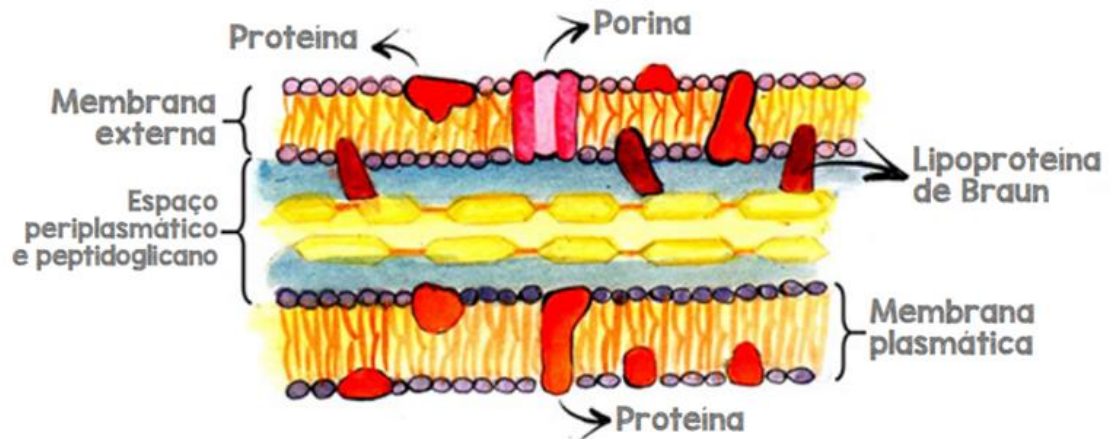
Fonte: BRIXNER et al., 2019

Esses microrganismos apresentam elevado risco potencial de bacteremia nosocomial entre recém-nascidos de baixo peso, os quais são imunologicamente imaturos, e frequentemente requerem procedimentos invasivos para administração de substâncias nutritivas e medicamentosas. Desta maneira, esses microrganismos estão amplamente envolvidos em infecções relacionadas ao uso de cateter intravenoso, um dispositivo médico invasivo muito utilizado em pacientes hospitalizados. O aumento da incidência de bacteremia nosocomial por SCoN em neonatos, nos últimos 20 anos, tem sido associado ao da sobrevivência de crianças prematuras com peso menor que 1.500 g ao nascimento e à sua longa permanência no ambiente hospitalar. (LEVINSON, 2010a; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017a).

As bactérias Gram negativas possuem parede celular mais complexa (Figura 2), possuindo duas diferentes camadas: (1) membrana externa, constituída por lipoproteínas, fosfolipídios, proteínas e lipopolissacarídeos e (2) uma fina camada de peptidoglicano (BRIXNER et al., 2019). A *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp. são bactérias Gram negativas e fazem parte da família Enterobacteriaceae, no qual são encontradas no intestino, fazendo parte da microbiota humana. Porém, algumas cepas podem causar infecções nosocomiais, como

aquelas relacionadas a uso de dispositivos médicos, tais como cateteres uretrais e intravasculares (REISNER et al, 2014).

**Figura 2 - Estrutura da parede celular de bactérias Gram negativas.**



Fonte: BRIXNER et al., 2019

Outro exemplo, são as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, classificadas como bacilos Gram negativos não fermentadores amplamente encontradas nos ambientes, particularmente na água e em seus sistemas de distribuição (JEUKENS et al., 2019). Estas bactérias estão muito relacionadas com infecções oportunistas em pacientes imunodeprimidos e em estado crítico de saúde, tais como infecções de correntes sanguíneas em pacientes em tratamento oncológicos e em UTIs (TOFAS et al., 2017). Infecções causadas pelas bactérias *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, em geral, estão associadas à alta letalidade, pelas limitadas opções terapêuticas, em decorrência de resistência antimicrobiana e são os principais agentes etiológicos de infecções respiratórias (ASSEFA, 2022; PACHORI; GOTHALWAL; GANDHI, 2019). O microrganismo *A. baumannii* apresenta uma taxa de mortalidade que pode alcançar 56% em pacientes gravemente infectados, já infecções sistêmicas causadas por *P. aeruginosa* apresentam mortalidade de até 70% (MATOS et al., 2018; SHI et al., 2020).

*Candida albicans* são leveduras ovais com brotamento único ou como pseudo-hifa, sendo diferenciada de outras espécies pelas reações de fermentação de carboidratos. Este fungo está frequentemente presente na microbiota comensal das membranas mucosas do trato respiratório superior, trato gastrointestinal, na vagina e na pele dos indivíduos (GOW; YADAV, 2017; LEVINSON, 2010b; NAGLIK et al., 2017).



Por fazer parte do microbioma normal da pele, a *C. albicans* não é transmitida, mas favorece o desenvolvimento de infecções que envolvem instrumentos/materiais que penetram neste tecido, como agulhas e cateteres. Devido a isso, é considerada a terceira causa mais comum de bacteremia em indivíduos hospitalizados, uma vez que apresenta habilidade de formar biofilme, fator que reflete sua virulência e patogenicidade (GULATI; NOBILE, 2016; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2017b).

### **2.3 Epidemiologia e controle da infecção de corrente sanguínea relacionada ao uso de cateter**

Entre as diversas patologias infecciosas que podem vir a acometer um paciente internado, a ICS é uma das mais relevantes, sendo responsável por causar desfechos clínicos desfavoráveis (ALFOUZAN et al., 2021; IZADI et al., 2020). Neste cenário, são consideradas a sexta causa de IRAS em UTIs, ao nível nacional e mundial, em que as taxas são de, respectivamente, 4,9% e 4,7% (SILVA et al., 2012; VINCENT et al., 2009).

Muitas dessas infecções podem possuir relação com o uso de dispositivos médicos invasivos, tais como os cateteres venosos centrais e periféricos (DADI et al., 2021; PINELLI et al., 2018). Nos últimos anos, diversos estudos discutem sobre as ICS relacionadas ao uso de dispositivos médicos invasivos, conforme descrito no Quadro 1.

Visando reduzir a incidência do desenvolvimento dessa IRAS, inúmeras estratégias de controle são adotadas em unidades de atendimento de saúde (BIERLAIRE et al., 2021; MANZO et al., 2022). Para isso, deve-se dar atenção para inserção do cateter, que inclui o treinamento dos profissionais de saúde, o uso de clorexidina para antissepsia da pele e o uso de precauções de barreira estéril (BELL; O'GRADY, 2017; RAY-BARRUEL et al., 2019).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária preconiza algumas medidas de cuidado, conhecidas como *bundle* de prevenção de ICS relacionada ao uso de dispositivos médicos invasivos. As recomendações para os cateteres de uso periféricos são: (1) higiene das mãos dos profissionais previamente e posteriormente a inserção e manipulação do dispositivo; (2) seleção do cateter que atenda o objetivo desejado e sítio de inserção; (3) preparação da pele através da remoção de sujidades visíveis, com água, sabão e solução antisséptica, no local da punção; (4) estabilização do dispositivo, a fim de garantir a integridade do acesso e prevenir o deslocamento e/ou perda do cateter; (5) aplicação de coberturas para proteger o local da punção e reduzir possíveis casos de processos infecciosos, além de fixar o cateter adequadamente; (6) *flushing* (lavagem do lúmen do cateter) e manutenção do cateter periférico; (7) cuidados

realizados no local de inserção do cateter, avaliando visualmente a presença de rubor, edema e secreções e outros; e (8) remoção do cateter (BRASIL, 2017).

**Quadro 1 – Alguns estudos encontrados na literatura de ICS relacionada ao uso de cateter.**

Autor (ano)	País	Principais achados
Silva et al. (2018)	Brasil	Dos pacientes internados em UTI adulto, 64,7 % necessitaram uso de cateter venoso central, em que a taxa de infecção associada ao dispositivo foi de 15,1 %. Já na UTI neonatal, 94,7 % pacientes utilizaram cateter de inserção periférica, com uma taxa dessa infecção de 22,9 %.
Lee et al. (2019)	Coréia do Sul	Os fatores de risco associados à ICSRC incluíram o número de cateteres, o uso de PICCs para quimioterapia e o tempo de internação hospitalar. A morte relacionada às ICSRC periféricos foi comum em pacientes submetidos à quimioterapia, diabéticos e pacientes idosos.
Haughey; White; Seckeler (2019)	Estados Unidos	Verificaram que quando submetidos à cirurgia cardíaca congênita, os neonatos apresentam ICSRC em quase o dobro da taxa dos bebês mais velhos. Além disso, a presença dessa IRAS foi responsável por uma mortalidade de 2-8 vezes maior e custos hospitalares de 4-6 vezes maiores.
Jiang et al. (2019)	China	A taxa de incidência foi de 4,11 ICSRC por 1000 internações. Bactérias Gram negativas foram responsáveis por causar 56,4 % das infecções, seguido das bactérias Gram positivas (33,4 %) e fungos (7 %). Além disso, 41,5 % dos isolados de <i>Escherichia coli</i> foram positivos ESBL e 42,1 % dos isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> foram resistentes à meticilina.
Surapat et al. (2020)	Tailândia	Das ICSRC causadas por bacilo Gram negativo, os três patógenos mais comuns identificados foram <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (22,0 %), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (16,7 %) e <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (13,4 %), em que 89 episódios dessa infecção ocorreram enquanto os pacientes estavam recebendo antibioticoterapia.
Broudic et al. (2020)	França	A taxa de incidência foi de 4,6/1.000 cateter/dia, sendo a maior incidência na UTI neonatal (13,7/1.000 cateter/dia). <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> foram responsáveis por 77,5 % dos casos de ICSRC. Além disso, os fatores independentemente associados a um maior risco de infecção em neonatos foram a ventilação invasiva e a baixa idade gestacional.
Silva et al. (2021)	Brasil	A taxa de incidência, durante o período de 2012-2016, variou de 2,3 a 3,2 por 1.000 cateter/dia. Os microrganismos mais frequentes foram <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Resistência a cefalosporinas e carbapenêmicos de 3ª e 4ª geração foi detectada entre as bactérias Gram negativas e resistência à oxacilina entre as bactérias Gram positivas.
Zeng et al. (2021)	China	A incidência média de ICSRC foi de 1,5/1.000 cateter/dia. Entre os 702 casos dessa IRAS, foram isoladas 735 cepas de diferentes patógenos, entre as quais <i>Staphylococcus</i> spp. foi o microrganismo mais prevalente. (27,07 %), seguido por <i>Enterobacteriaceae</i> (22,31 %).
Badia-Cebada et al. (2022)	Espanha	A idade média dos pacientes foi de 64,1 anos; 36,6 % eram do sexo feminino. No total, 73,7 % das ICSRC ocorreram em enfermarias não intensivas, 62,7 % foram relacionadas ao CVC, 24,1 % ao CVP e 13,3 % para PICC. Ao longo do estudo, os casos de ICSRC associados ao CVC e diagnosticados em UTI diminuíram enquanto os episódios em enfermarias convencionais envolvendo CVP e PICC aumentaram.
Fakih et al. (2022)	Estados Unidos	Verificaram que, em comparação com o período anterior à pandemia de COVID-19, as taxas de ICSRC aumentaram 51,0 % durante a pandemia. ICSRC causadas por <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> aumentaram em 130 % e por <i>Candida</i> spp. em 56,9 %.

Legenda: ICSRC (Infecção da Corrente Sanguínea Relacionada ao Cateter); UTI (Unidade de Terapia Intensiva); CVC (Cateter Venoso Central); CVP (Cateter Venoso Periférico); PICC (Cateter Central de Inserção Periférica); IRAS (Infecção relacionada a assistência à saúde); ESBL ( $\beta$ -lactamase de espectro estendido).

Sabe-se da eficácia das coberturas contendo solução de clorexidina, sendo estas amplamente utilizadas no ambiente hospitalar na redução efetiva da colonização bacteriana da pele, visando minimizar os riscos para o desenvolvimento de ICS relacionada ao uso de cateter (PUIG-ASENSIO et al., 2020; WEI et al., 2019). Além disso, a relação custo-eficácia do uso de curativos impregnados com clorexidina é bem elucidada, uma vez que os custos para aquisição desses curativos são menores quando comparados aos gastos para o tratamento de uma ICS relacionada ao uso de dispositivos médicos invasivos (HEIMANN et al., 2018).

## **2.4 Biopolímeros e outras substâncias naturais como tecnologias na prevenção de IRAS**

Com o desenvolvimento da ciência médica moderna e avanços tecnológicos, o uso de polímeros naturais vem sendo cada vez mais estudado (ILYAS et al., 2022; MASSARELLI et al., 2021; MATICA et al., 2019; ZHANG et al., 2020). Em consequência disso, cada vez mais os polímeros naturais e/ou modificados vêm sendo amplamente aplicados na área da saúde, podendo apresentar características bioadesivas, biodegradáveis e biomiméticas (HAMEDI et al., 2022; MATICA et al., 2019; WANG et al., 2022; ZHANG et al., 2020; ZHANG et al., 2021).

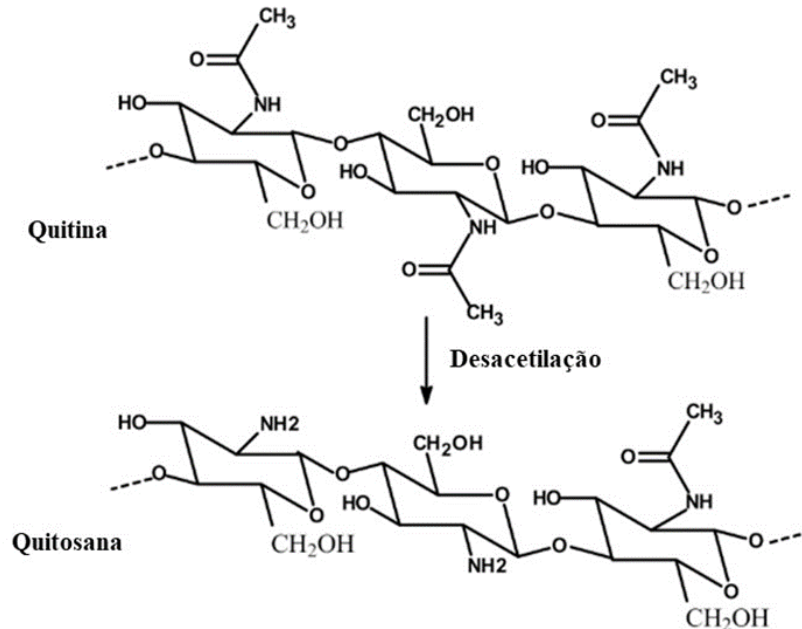
Sabe-se que esses biopolímeros possuem muitos efeitos benéficos quando utilizados como curativos, sendo considerados opções promissoras para prevenir IRAS, principalmente quando relacionadas a bactérias resistentes (ARDEAN et al., 2021; LOU et al., 2018; MATICA et al., 2019). Além disso, esses biopolímeros contendo substâncias naturais com ação antimicrobiana, como os óleos essenciais, estão sendo testados para auxiliar no controle de infecções (DE LUCA et al., 2021; KHODABAKHSHI et al., 2019; SANTOS et al., 2019; SOBCZYK et al., 2021).

### **2.4.1 Formulações de quitosana**

Dentre os polímeros naturais biodegradáveis, a quitosana tem recebido considerável atenção nos últimos anos devido às suas propriedades biológicas, tais como: atividade antimicrobiana, antioxidante e antitumoral; efeito anticoagulante e analgésico; aceleração da cicatrização e outros (HAMEDI et al., 2022; MATICA et al., 2019). Isolada de exoesqueletos de crustáceos, lulas e fungos, a quitosana, é um polissacarídeo catiônico linear composto de  $\beta$ -(1,4)-ligado-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranoses (glucosamina) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranoses (N-acetilglucosamina), o qual é obtido por desacetilação alcalina ou enzimática da quitina (Figura 3) (SEBAALY et al., 2021). Além disso, é um polímero amplamente

empregado pela indústria farmacêutica para o fornecimento de uma grande variedade de agentes terapêuticos (AHMED; ALJAEID, 2016; MADNI et al., 2021).

**Figura 3 - Produto de quitosana obtido da desacetilação da quitina.**



Fonte: Adaptado de Sebaaly et al., 2021.

A quitosana é um polímero mucoadesivo, biocompatível e biodegradável, possui afinidade por biomacromoléculas, sendo também considerado um agente com propriedades antimicrobianas, além de acelerar processos cicatrizantes. Outra característica muito importante desse biopolímero é a sua capacidade de formação de filme e de ser potencialmente modificável, física e quimicamente (BAKSHI et al., 2020; CHEN et al., 2015; SHAMELI; SAIFUL; YUSEFI, 2022; ZAMBOULIS et al., 2020).

Acredita-se que a atividade antimicrobiana da quitosana ocorra devido à interação de suas moléculas carregadas positivamente com a superfície dos microrganismos, que são carregados negativamente, resultando na aglutinação das células e a inibição do crescimento dos mesmos (CHAKRABORTY et al., 2020; HONG et al., 2019; KE et al., 2021; KHAN et al., 2019). No entanto, outros mecanismos já foram propostos, como a capacidade da quitosana em se ligar de maneira direta ao ácido desoxirribonucleico (DNA) dos microrganismos e inibir a síntese proteica; ou devido a sua capacidade de quelação de metais do polímero de quitosana que se ligam à parede celular do microrganismo e bloqueiam a passagem de nutrientes essenciais para vida dos mesmos (KE et al., 2021; WANG et al., 2005). Ambos os mecanismos são

influenciados pelas propriedades do biopolímero, como (ABD et al., 2020; ARANAZ et al., 2021; DHILLON et al., 2013; MATICA et al., 2019; RIAZ RAJOKA et al., 2020):

- *Grau de desacetilação*: fator que influencia fortemente as propriedades antimicrobianas da quitosana, através do aumento da solubilidade e da carga positiva. Sendo assim, a quitosana que apresentar um grau de desacetilação maior, apresentará maior solubilidade em água, gerando mais carga positiva e, conseqüentemente, aumentando o poder antimicrobiano; situação inversa quando comparado à quitosana com menor grau de desacetilação.

- *Massa molar*: a quitosana de massa molar alta é incapaz de passar pela membrana celular, cuja ação antimicrobiana se dá pela ligação à superfície da célula, atuando como uma barreira para impedir a entrada de nutrientes, levando a lise celular. Enquanto que quitosana de baixa massa molar consegue penetrar membrana celular do microrganismo e, até mesmo se ligar ao seu DNA, causando inibição do mRNA e da síntese de proteínas.

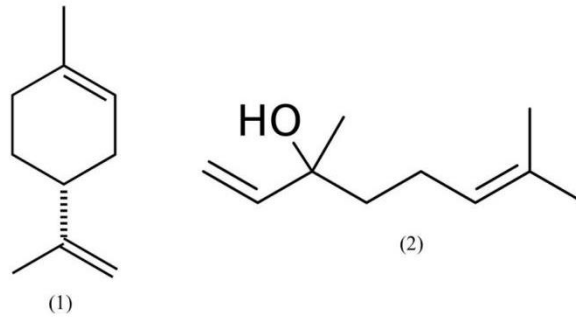
- *pH*: a propriedade antimicrobiana da quitosana depende muito da sua solubilidade, em que na sua forma cristalina, é solúvel em soluções aquosas apenas em pH abaixo de 7, uma vez que sua solubilidade se deve à protonação dos grupos amino em condições ácidas. Sendo assim, quando a quitosana é solubilizada em meio aquoso ácido, ocorre uma alteração nas moléculas policatiônicas do biopolímero, devido ao pH ser inferior ao valor de pKa, provocando a protonação do grupo amino da quitosana; ou seja, quando em um pH 6,0, a quitosana carrega uma carga positiva (NH<sup>+</sup>), e essa protonação possibilita a interação eletrostática com moléculas carregadas negativamente, como por exemplo, a membrana celular microbiana, podendo ocasionar o extravasamento dos componentes intracelulares.

#### **2.4.2 Óleo essencial de bergamota**

Óleos essenciais cítricos são amplamente utilizados como ingredientes aromatizantes em produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos, sendo obtidos principalmente da casca dos frutos, embora flores ou folhas também tenham sido utilizadas (ARENA; ALBERTO; CARTAGENA, 2021; OLIVEIRA et al., 2022; VALUSSI et al., 2021). *Citrus* é um gênero da família Rutaceae e é considerado uma das maiores espécies vegetais, composta por 40 espécies cítricas diferentes, amplamente distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo (SINGH et al., 2021; VALUSSI et al., 2021). Dentro desse gênero, tem-se a bergamota (*Citrus reticulata*), cujo óleo essencial é extraído de suas cascas (SINGH et al., 2021). O óleo essencial desse fruto é considerado uma importante fonte de compostos biologicamente ativos, apresentando propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, inseticidas e antioxidantes (GONZÁLEZ-MAS et al., 2019; SINGH et al., 2021; VALUSSI et al., 2021).

Apesar dos componentes que exercem a função antimicrobiana do óleo essencial de *Citrus* spp. não estar totalmente elucidado, estudos demonstram que os compostos mais abundantes, limoneno e linalol (Figura 4), são os responsáveis pelo efeito dessa atividade (AMBROSIO et al., 2021; QUIRINO et al., 2022; SINGH et al., 2021).

**Figura 4 - Estruturas químicas do limoneno (1) e do linalol (2).**



Fonte: Adaptado de Wikipedia (a) e Wikipedia (b).

Sabe-se que o óleo essencial de *C. reticulata* inibe o crescimento de diversas bactérias, tais como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (DOSOKY; SETZER, 2018; SONG et al., 2020; YABALAK; ERDOĞAN ELIUZ; NAZLI, 2022). A ação antifúngica do óleo essencial de *Citrus reticulata* está relacionada principalmente à presença dos compostos citronelol, octanal, citral, decanal, nonanal,  $\beta$ -pineno, linalol, limoneno,  $\alpha$ -terpineol e  $\gamma$ -terpineno (TAO; JIA; ZHOU, 2014). Na literatura já há estudos da efetividade da atividade antimicrobiana deste óleo frente a muitos fungos, como *Penicillium italicum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* e *Helminthosporium oryzae* (DOSOKY; SETZER, 2018; MANDAL; MANDAL, 2016).

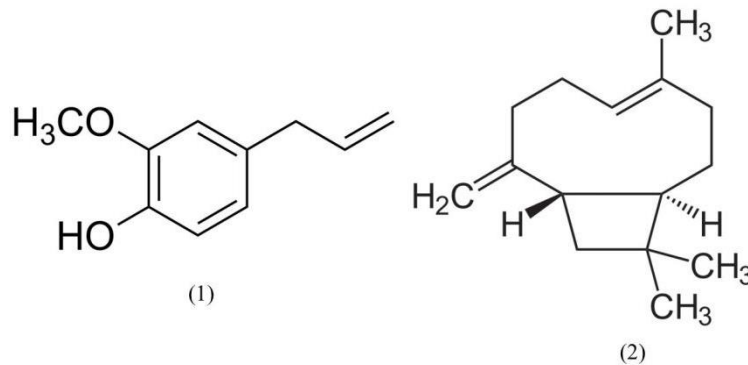
### 2.4.3 Óleo essencial de cravo-da-índia

O cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*) é pertencente à família Myrtaceae, a qual consiste em aproximadamente 5.950 espécies de cerca de 132 gêneros que estão distribuídos mundialmente, em regiões tropicais e subtropicais. O gênero *Eugenia* é conhecido pelas suas propriedades aromáticas e medicinais, baseadas na química de seus óleos essenciais, que já possuem mais de 300 compostos distintos identificados (BIDA et al., 2019; STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011). Sendo assim, o óleo essencial de *E. caryophyllus* possui

diversas aplicações em indústrias alimentícias, sanitárias, biomédicas, farmacêuticas, de embalagens ativas e de cosméticos devido às suas propriedades biológicas, incluindo antioxidante, antimicrobiana, anti-séptica, pesticida, analgésica e anticarcinogênica (GOYAL et al., 2022; ULANOWSKA, M.; OLAS, 2021; WANG et al., 2021). É um composto bastante utilizado na medicina oral, contra doenças infecciosas periodontal, devido a sua atividade antimicrobiana contra bactérias orais (ULANOWSKA, M.; OLAS, 2021; VELOSO et al., 2020).

O principal componente ativo do óleo essencial de cravo isolado é o eugenol (78%), seguido do  $\beta$ -cariofileno (13%) (Figura 5) e outros compostos, como o álcool benzílico (UNALAN et al., 2019). Frente a esses compostos, estudos demonstram atividade antimicrobiana desse óleo essencial contra microrganismos patogênicos, como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp. e *E. coli* (DAHIRU; PALIWAL, 2021; ULANOWSKA, M.; OLAS, 2021; XU et al., 2016). O eugenol pode destruir as paredes celulares e membranas de microrganismos e permear a membrana citoplasmática, inibindo a síntese normal de DNA e proteínas (SHAHBAZI, 2019, XU et al., 2016).

**Figura 5 - Estruturas químicas do eugenol (1) e do  $\beta$ -cariofileno (2).**



Fonte: Adaptado de Wikipedia (c) e Wikipedia (d).

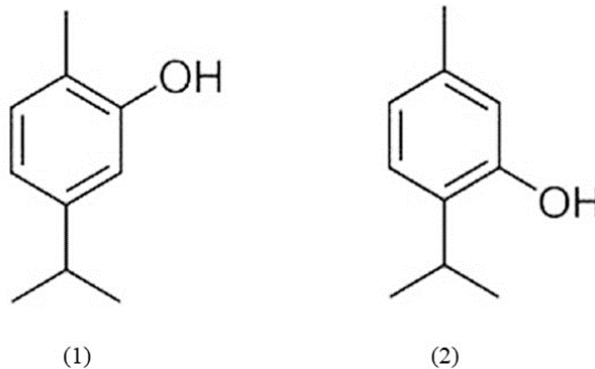
O óleo essencial de cravo pode inibir bactérias Gram negativas (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *P. aeruginosa*), bactérias Gram positivas (*S. aureus* e *Streptococcus* spp.) e fungos, como o *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *C. albicans*. A ação antimicrobiana desse óleo essencial é maior para as bactérias Gram positivas, em virtude da camada de mucopeptídeo difusível dessas bactérias, que as torna mais suscetíveis aos agentes antimicrobianos (BEHBAHANI; NOSHAD; FALAH, 2019; HARO-GONZÁLEZ et al., 2021; SHAHBAZI, 2019).

#### 2.4.4 Óleo essencial de orégano

O óleo essencial de orégano, pertencente à família Lamiaceae, também são considerados fontes naturais e têm sido propostos como potenciais alternativas antimicrobianas (SKOUFOGIANNI; SOLOMOU; DANALATOS, 2019; SOLTANI et al., 2021), em que as substâncias fenólicas destes óleos são as principais responsáveis pelas propriedades antibióticas (BORA et al., 2022; LOMBREA et al., 2020). Os óleos essenciais podem ser extraídos de diferentes partes da planta, porém para o óleo essencial de orégano a extração ocorre principalmente nas folhas da erva *Origanum vulgare*, com relatos de ampla atividade antibacteriana (ARAÚJO et al., 2021; LOMBREA et al., 2020).

O carvacrol e o timol (Figura 6) são os principais componentes do óleo essencial do orégano, e a atividade antimicrobiana desse óleo varia de acordo com a quantidade dos mesmos (BORA et al., 2022; MONDAL et al., 2021; SOLTANI et al., 2021). Devido ao caráter hidrofóbico do óleo essencial de orégano, os compostos aromáticos voláteis, carvacrol e timol, atuam dissolvendo a parte hidrofóbica da membrana bacteriana, aumentando a permeabilidade da membrana e causando a perda da estrutura da bicamada fosfolipídica; ou seja, esses dois terpenos causam danos estruturais e funcionais à membrana celular das bactérias (BORA et al., 2022; LOMBREA et al., 2020).

**Figura 6 - Estruturas químicas do carvacrol (1) e do timol (2).**



Fonte: Adaptado de Hajimehdipoor et al., 2010.

Sabe-se que o óleo essencial de orégano possui maior atividade antimicrobiana para as bactérias Gram positivas, devido ao grau de complexidade estrutural da parede celular das bactérias Gram negativas (POMBO et al., 2018). Dentre as bactérias Gram positivas, esse óleo essencial possui ação antibacteriana frente a cepas de *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*,



*Propionibacterium acnes* (LOMBREA et al., 2020; LU et al., 2018; SOLTANI et al., 2021). Para as bactérias Gram negativas, estudos comprovam atividade frente às cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis* (BARBOSA et al., 2020; BORA et al., 2022; LOMBREA et al., 2020).

Em relação à ação antifúngica do óleo essencial de orégano, esta está relacionada com a perturbação da integridade da parede celular fúngica e com a interferência da síntese de ergosterol (VAHEDI et al., 2016). Essa atividade antimicrobiana é observada frente às cepas dos seguintes fungos: *C. albicans*, *Candida glabrata*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *A. flavus*, *Malassezia furfur*, *Penicillium funiculosum* e *Penicillium ochrochloron* (BAJ et al., 2020; LOMBREA et al., 2020; VAHEDI et al., 2016; VINCIGUERRA et al., 2019).

## **2.5 Formulações de quitosana contendo óleos essenciais e inibição de microrganismos patogênicos**

O interesse em utilizar a quitosana no desenvolvimento de filmes para aplicabilidade voltadas à saúde está em constante crescimento (SULTANKULOV et al., 2019). Diversos estudos já vêm trabalhando com esse biopolímero, o qual é considerado muito promissor quando aplicado para a finalidade de curativos, atuando no processo de cicatrização de feridas (ALVEN et al., 2022; FENG et al., 2021; JI et al., 2022; MATICA et al., 2019; MOEINI et al., 2020).

Considerando suas propriedades antimicrobianas, a quitosana possui ação antifúngica e antibacteriana frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas, conforme suas propriedades intrínsecas de grau de desacetilação, de massa molar e de pH, anteriormente discutidos (CONFEDERAT et al., 2021; MATICA et al., 2019; RIAZ RAJOKA et al., 2020). Estudos já demonstram que somente o filme de quitosana já possui efeito antimicrobiano frente a *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium* e *C. albicans* (AMALRAJ et al., 2020; ESPÍNDOLA SOBCZYK et al., 2021; SANTOS et al. 2019). Apesar disso, já se tem estudos que demonstram que os filmes secos de quitosana não conseguem interagir com as células microbianas e, conseqüentemente, não apresentam efeitos inibitórios, porém, quando em soluções de quitosana, apresentaram potente atividade (FOSTER et al., 2011; INTA; YOKSAN; LIMTRAKUL, 2014). O Quadro 2 descreve alguns estudos com o desenvolvimento de biopolímeros de quitosana contendo aos óleos essenciais.

**Quadro 2 – Alguns estudos demonstrando a utilização de polímeros de quitosana contendo óleos essenciais na prática clínica.**

Autor (ano)	Objetivo	Quitosana - G.D.	Microrganismo	Halo de inibição/MIC		Principais achados
Güneş; Tihminlioğlu (2017)	Desenvolver filmes de quitosana incorporados com óleo <i>Hypericum perforatum</i> para aplicações de curativos.	85%	<i>Escherichia coli</i>	2,09 cm		Filmes de quitosana incorporados com óleo de <i>H. perforatum</i> possuem efeito antimicrobiano para <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> . Além disso, não apresentaram efeitos citotóxicos sobre as células fibroblásticas e proporcionaram uma boa superfície para fixação e proliferação celular. Sendo assim, filmes de quitosana incorporados o <i>H. perforatum</i> pode ser considerado um novo e potente biomaterial para aplicações de cicatrização de feridas.
			<i>Staphylococcus aureus</i>	1,97 cm		
Lamarra et al. (2020)	Desenvolver curativos de quitosana e PVA (álcool polivinílico) com incorporação de óleo essencial de cabreúva para uso dermatológico.	85%	<i>Staphylococcus aureus</i>	2,1 cm		O curativo de quitosana combinado ao óleo essencial de cabreúva provou sua eficácia contra os microrganismos testados, capacidade de produzir regeneração celular e ausência de citotoxicidade em células HaCaT. Desta maneira pode ser um material para ser utilizado em queimaduras superficiais ou ferimentos leves como curativos.
			<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,2 cm		
Amalraj et al. (2020)	Incorporar óleo essencial de gengibre e de pimenta preta em filme composto de PVA/goma arábica/quitosana, a fim de melhorar a atividade antibacteriana e cicatrizante para aplicações como curativos tradicionais.	90%		<b>Filme OEPP</b>	<b>Filme OEG</b>	Os filmes de quitosana/PVA/goma arábica com os óleos essenciais de gengibre e pimenta preta inibiram significativamente o crescimento das bactérias testadas, ou seja, os resultados obtidos demonstraram que os filmes desenvolvidos são alternativas promissoras para o uso farmacêutico.
			<i>Bacillus cereus</i>	2,04 cm	1,78 cm	
			<i>Staphylococcus aureus</i>	1,87 cm	1,63 cm	
			<i>Escherichia coli</i>	1,68 cm	1,46 cm	
Espíndola Sobczyk et al. (2021)	Comparar a influência da ação antimicrobiana nos filmes à base de quitosana/alginato fabricados contendo óleo essencial de orégano (OEO).	75-85%		<b>Filme OEO 0,25%</b>	<b>Filme OEO 0,5%</b>	Todos os filmes exibiram atividade antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> , demonstrando a eficiência de inibir as bactérias testadas nos filmes contendo o óleo de orégano incorporado, sendo considerados promissores para uso como curativos.
			<i>Staphylococcus aureus</i>	5,78 mm	10,03 mm	
			<i>Escherichia coli</i>	2,99 mm	5,34 mm	

**Legenda:** G.D. (Grau de Desacetilação); PVA (Álcool Poli Vinílico); OEPP (Óleo Essencial de Pimenta Preta); OEG (Óleo Essencial de Gengibre); OEO (Óleo Essencial De Orégano).

Ainda, no estudo realizado por Santos e colaboradores (2019), no desenvolvimento de filmes de quitosana contendo óleo essencial de cravo-da-índia ou ao óleo essencial de melaleuca, nas concentrações de 1 e 3 %, se verificou aumento da zona de inibição conforme a concentração do óleo essencial foi adicionado. A solução de quitosana apresentou atividade contra as cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, com halos de 8,5, 7,0 e 7,5 mm, respectivamente. A composição com associação de óleo essencial de cravo-da-índia 3 % apresentou atividade contra as *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* 9,0, 8,0 e 7,0 mm, respectivamente. A solução de quitosana associada ao óleo essencial de melaleuca 1 % apresentou halos de inibição de 6,0, 9,0 e 7,0 mm, respectivamente

Além da exploração desse filme na área biomédica, eles também são amplamente explorados no campo alimentício, como no estudo de Oliveira Filho e colaboradores (2020), os quais produziram um filme de quitosana contendo óleo essencial de *Citrus limonia*. O filme sem adição do óleo não teve efeito inibitório para as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, mas após a sua adição, encontraram ação antimicrobiana somente para a cepa de *S. aureus*, cujas zonas de inibição foram de 5,1 e 29,1 mm nos filmes de quitosana contendo 0,25 % e 1,0% de óleo essencial de *C. limonia*, respectivamente (DE OLIVEIRA FILHO et al., 2020).

Al-Hilifi, Al-Ali e Petkoska (2022) testaram a atividade antimicrobiana de filmes de quitosana contendo diferentes concentrações de óleo essencial de gengibre, na produção de embalagens de alimentos. Verificaram que o crescimento dos microrganismos testados foi inibido por todos os filmes, contendo ou não a óleo essencial de gengibre. Além disso, a zona de inibição aumentou conforme ou aumento da concentração de óleo essencial incorporado no filme de quitosana. Apesar dos filmes controles, contendo somente a quitosana, já apresentarem ação antimicrobiana, o filme contendo a maior concentração de óleo de gengibre (0,3 %), inibiu efetivamente o crescimento das bactérias testadas, resultando em halos de 13,11 mm, 17,35 mm, 14,95 mm, 17,52 mm, 14,90 mm e 18,35 mm, para *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., *Bacillus subtilis*, *P. aeruginosa* e *Streptococcus* sp., respectivamente (AL-HILIFI; AL-ALI; PETKOSKA, 2022).

Conforme verificado nos estudos acima descritos, a literatura trás o desenvolvimento de curativos convencionais, voltados para a cicatrização de feridas e queimadura. A proposta deste estudo é visar a prevenção de IRAS relacionada ao uso de cateter, através do desenvolvimento de um curativo a base de quitosana e óleos essenciais, ambos amplamente estudados e que apresentam conhecidas propriedades biológicas e antimicrobianas, para ser usado exclusivamente acima desses dispositivos invasivos.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Estudar a epidemiologia das infecções da corrente sanguínea relacionadas ao uso de cateter e desenvolver uma cobertura antimicrobiana para cateter, à base de quitosana e óleos essenciais, com atividade antibacteriana e antifúngica.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Realizar um levantamento epidemiológico das infecções de corrente sanguínea relacionadas ao uso de cateter notificadas no ano de 2016 a 2019 na UTI neopediátrica de um hospital de ensino;
- Realizar uma revisão de literatura das técnicas utilizadas para a realização de atividade antimicrobiana em filmes poliméricos de quitosana contendo óleos essenciais para uso biomédico;
- Desenvolver um filme polimérico de quitosana, com propriedades específicas para o uso em cobertura antimicrobiana, contendo óleos essenciais de bergamota, de cravo-da-índia e de orégano;
- Avaliar as propriedades físico-químicas dos filmes poliméricos desenvolvidos;
- Testar a atividade antimicrobiana das soluções filmogênicas e das coberturas desenvolvidas frente às bactérias de *S. aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* e *E. coli* e da levedura de *Candida tropicalis*;
- Testar a atividade citotóxica da cobertura antimicrobiana desenvolvida.

**CAPÍTULO II**  
**ARTIGOS**

**ARTIGO I**

**EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE  
INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE CATETER  
EM UMA UTI NEOPEDIÁTRICA NO SUL DO BRASIL**

Elaborado conforme as normas na Revista Saúde (Santa Maria)

Qualis Capes: B1

Aceito em 04 de outubro de 2022

**EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE  
INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADA AO USO DE CATETER  
EM UMA UTI NEOPEDIÁTRICA NO SUL DO BRASIL**

*EPIDEMIOLOGY AND RISK FACTORS FOR DEVELOPMENT CATHETER-RELATED  
BLOODSTREAM INFECTION IN A NEOPAEDIATRIC ICU IN THE SOUTH OF BRAZIL*

Betina Brixner<sup>1</sup>, Flavia Baierle<sup>1</sup>, Eliane Carlosso Krummenauer<sup>1,2</sup>, Chana de Medeiros da  
Silva<sup>1</sup>, Liliane Damaris Pollo<sup>3</sup>, Jane Dagmar Pollo Renner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Santa Cruz do Sul (Unisc)

<sup>2</sup> Hospital Santa Cruz (HSC)

<sup>3</sup> Universidade Federal de Santa Cruz do Sul (UFRGS)

**RESUMO**

**Objetivo:** Verificar os fatores de risco e os microrganismos associados com o desenvolvimento da infecção de corrente sanguínea relacionado ao uso de cateter em uma Unidade de Terapia Intensiva Neopediátrica de um hospital escola no interior do Rio Grande do Sul, no período de 2016 e 2019. **Método:** Estudo retrospectivo transversal e observacional, cujos dados foram coletados através do prontuário eletrônico do paciente (sexo, idade, idade gestacional, peso ao nascer, comorbidades, tempo de uso de cateter e desfecho clínico), bem como dos registros da comissão de controle de infecção do hospital (microrganismo e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos). **Resultados:** No período da pesquisa foi identificado que 77 pacientes desenvolveram infecção de corrente sanguínea relacionada ao cateter, sendo que 98,7 % eram neonatos (0-28 dias), 98,7 % eram do sexo masculino, 93,5 % nasceram de parto prematuro, além disso 76,6 % pacientes nasceram com menos de 34 semanas de gestação, e 81,8 % pesavam entre 500-2.500 gramas. Em relação ao tempo de uso do cateter, 57,1 % pacientes utilizaram o dispositivo por até 30 dias, os isolados bacterianos mais frequentes observados, foram *Staphylococcus* coagulase negativa (58,6 %), em que destes 91,4 % foram considerados resistentes a oxacilina. **Conclusões:** Foi possível identificar o perfil epidemiológico das infecções de corrente sanguínea relacionada ao cateter na Unidade de Terapia Intensiva Neopediátrica, em que o sexo masculino, recém-nascidos prematuros e de baixo peso foram os

mais acometidos pela infecção. O *Staphylococcus* coagulase negativa foi a bactéria mais isolada nas culturas e apresentou alta resistência frente à oxacilina.

Palavras-chave: Unidades de Terapia Intensiva Neonatal; Unidades de Terapia Intensiva Pediátrica; Infecções Relacionadas a Cateter; Bacteremia; Farmacorresistência Bacteriana.

## ABSTRACT

**Objective:** To verify the risk factors and microorganisms associated with the development of catheter-related bloodstream infection in a Neopediatric Intensive Care Unit of a teaching hospital in the Rio Grande do Sul, in 2016 to 2019. **Method:** Retrospective, observational, cross-sectional study, whose data were collected through the patient's electronic medical record (gender, age, gestational age, birth weight, comorbidities, time of catheter use, and clinical outcome), as well as from the records of the infection control commission of the hospital (microorganism and antimicrobial susceptibility profile). **Results:** During the research period, it was identified that 77 patients developed catheter-related bloodstream infection, of which 98.7 % were neonates (0-28 days), 93.5 % were male, 93.5 % were born prematurely, in addition, 76.6 % patients were born less than 34 weeks gestation, and 81.8 % weighed between 500-2,500 grams. Regarding the time of catheter use, 57.1 % patients used the device for up to 30 days, the most frequent bacterial isolates observed were coagulase-negative *Staphylococcus* (58.6 %), of which 91.4 % were considered oxacillin resistant. **Final considerations:** It was possible to identify the epidemiological profile of catheter-related bloodstream infections in the Neopediatric Intensive Care Unit, in which males, premature and low birth weight newborns were the most affected by the infection. Coagulase-negative *Staphylococcus* was the most isolated bacterium in cultures and showed high oxacillin resistant.

Keywords: Intensive Care Units, Neonatal; Intensive Care Units, Pediatric; Catheter-Related Infections; Bacteremia; Drug Resistance, Bacterial; prematurity.

## INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) na unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN) resultam em altos índices de morbimortalidade em recém-nascidos<sup>1,2</sup>. Fatores de risco associados a essa população incluem o baixo peso ao nascer, a prematuridade e os procedimentos médicos invasivos realizados<sup>1,3,4</sup>.

As infecções da corrente sanguínea (ICS) são o tipo mais comum de IRAS que ocorrem em UTIN, em que as sepses de início tardio, na maioria das vezes, são causadas devido ao uso



de cateteres venosos<sup>1,4</sup>. Sabe-se que o uso de cateteres é amplamente difundido em pacientes hospitalizados, fornecendo acesso vascular seguro para a administração de medicamentos, hemoderivados e outros; porém estão associados a risco de complicações graves, como a infecção da corrente sanguínea relacionada ao cateter (ICSRC)<sup>5</sup>.

Estudos anteriores<sup>2,3,5,6</sup> relataram que a incidência de ICSRC na UTIN variou de de 3,2-18,6 por 1.000 cateter/dia. Devido à imunodeficiência e aos diversos fatores de risco associados, a ICSRC não prolonga somente o período de internação hospitalar, mas também pode estar contribuindo para o aumento da mortalidade de recém-nascidos<sup>4</sup>. Diante disso, o objetivo desse estudo foi verificar os fatores de risco e os microrganismos associados com o desenvolvimento da infecção de corrente sanguínea relacionado ao uso de cateter em uma UTI Neopediátrica (UTI-NEOPED) de um hospital escola no Sul do Brasil.

## MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo transversal e observacional, através dos dados das infecções relacionadas ao cateter central de inserção periférica em pacientes internados na UTI Neopediátrica, de um hospital escola, no período de 2016-2019. Os dados foram obtidos por meio de prontuários eletrônicos dos pacientes e nos arquivos da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH).

O hospital é localizado na região do Vale do Rio Pardo, interior do Rio Grande do Sul, e conta com 232 leitos, sendo referência para gestantes de alto risco, na 13ª Coordenadoria Regional de Saúde. Essa instituição hospitalar dispõe de uma UTI-NEOPED, com oito leitos para o atendimento de recém-nascidos (0 a 28 dias) e dois leitos para atendimento pediátrico (29 dias a 12 anos). Dentre as ações e estratégias que o hospital realiza tem-se a Rede Cegonha, com leitos exclusivamente destinados para a implementação do projeto, bem como ações visando à redução da mortalidade infantil e fetal, junto ao comitê municipal.

Nesse estudo foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade inferior a um ano, com internação na instituição desde a data do seu nascimento e cuja cultura apresentou crescimento microbiano, conforme notificação da CCIH. Em contrapartida, excluíram-se os pacientes, cuja amostra da cultura não apresentava dados sobre o perfil de susceptibilidade antimicrobiana.

As coletas das variáveis foram realizadas através de um levantamento de dados no sistema informatizado do hospital (MV 2000®), utilizando as ferramentas do Sistema de Gerenciamento de Unidades (PAGU) para pesquisa de dados dos pacientes e da internação, juntamente com

informações cedidas pela CCIH, através do Sistema de Controle de Infecção Hospitalar (PSIH), possibilitando a busca pelas notificações da infecção e do perfil de susceptibilidade antimicrobiana do microrganismo patogênico. Os dados coletados foram descritos em formulário contendo os dados relacionados aos pacientes (idade, sexo, idade gestacional, comorbidades e desfecho clínico) e relacionado ao quadro clínico e infeccioso (data de inserção e retirada do cateter, tempo de permanência na UTI, microrganismos isolados e susceptibilidade aos antimicrobianos).

Os dados foram tabulados e analisados no *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 23.0. Foram realizadas estatística descritiva das variáveis, em que se avaliou as frequências, médias e desvio padrão. As associações entre as variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste de Qui Quadrado, em que um valor de  $p$  menor ou igual que 0,05 foi considerado significativo.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), sob parecer n° 3.248.256 e o CAAE: 09609119.4.0000.5343.

## RESULTADOS

Foram analisadas 81 notificações de ICSRC e, após aplicar os critérios de exclusão, o estudo permaneceu com um total de 77 pacientes. Destes, houve 8 casos em que foram isoladas duas bactérias na cultura relacionadas ao uso de cateter e 14 casos de reinfecção durante o período de internação. Referente à densidade de incidência da infecção, as mesmas foram de 15,50, 11,36, 14,67 e 11,02/1000 cateteres/dia, para o período de 2016 a 2019, respectivamente.

Verificou-se que 41 (53,2 %) dos pacientes eram do sexo masculino e neonatos. A média do peso de nascimento foi de  $1.447 \pm 694$  gramas, variando de 540 gramas a 3.680 gramas. Além disso, 40 (51,9 %) meninos nasceram de parto prematuro, em que a idade gestacional, para ambos os sexos, mais prevalente foi de 34 semanas ou menos (76,6 %) (Tabela 1).

O tempo de permanência na UTI-NEOPED variou de 6 a 132 dias, apresentando uma média de  $45,29 \pm 27,79$  dias. O período de utilização de cateter durante a internação variou de 6 a 109 dias, com média de  $34,84 \pm 22,09$  dias. A Tabela 2 demonstra a comparação das características de peso ao nascer, tempo de uso de cateter e desfecho clínico em relação à prematuridade dos neonatos. A comparação do peso ao nascer com o nascimento prematuro apresentou significância estatística. Além da prematuridade, outras complicações durante a internação e/ou congênitas também acometeram esses pacientes neopediátricos, como comorbidades cardíacas (3,9 %), pulmonar (20,8 %), neurológica (3,9 %), endocrinológica (2,6 %), renal (3,9 %), hepática (5,2 %) e gastroenterológica (9,1 %).

Referente ao desfecho clínico, 10 pacientes diagnosticados com ICS relacionada ao uso de cateter foram a óbito. Destes, nove nasceram com idade gestacional inferior ou igual a 34 semanas, cinco eram do sexo masculino e cinco do feminino; e sete estavam realizando terapia antibacteriana prévia. Todos os óbitos foram registrados para aqueles pacientes que desenvolveram ICS relacionada ao uso de cateter na faixa etária de até 28 dias de vida.

Tabela 1 – Comparação das características da gestação e dos pacientes neopediátricos com diagnóstico de ICSRC em relação ao sexo.

	SEXO			<i>p</i> *
	Feminino N (%)	Masculino N (%)	Total N (%)	
<b>Faixa etária</b>				
de 0 a 28 dias	35 (45,5)	41 (53,2)	76 (98,7)	0,283
de 29 dias a 2 meses	1 (1,3)	0 (0,0)	1 (1,3)	
<b>Peso ao nascer (gramas)</b>				
≤750	4 (5,2)	2 (2,6)	6 (7,8)	0,190
751 - 1.000	9 (11,7)	8 (10,4)	17 (22,1)	
1.001 - 1.500	8 (10,4)	19 (24,7)	27 (35,1)	
1.5001 - 2.500	6 (7,8)	7 (9,1)	13 (16,9)	
≥2.501	9 (11,7)	5 (6,5)	14 (18,2)	
<b>Idade gestacional (semanas)</b>				
<34**	26 (33,8)	33 (42,9)	59 (76,6)	0,389
34 - 36	5 (6,5)	6 (7,8)	11 (14,3)	
37 - 40	5 (6,5)	2 (2,6)	7 (9,1)	
<b>Prematuridade</b>				
Sim	32 (41,6)	40 (51,9)	72 (93,5)	0,067
Não	4 (5,2)	1 (1,3)	5 (6,5)	

\* Teste do Qui-quadrado de Person. \*\* Entre 21 e 33 semanas de gestação.

Ressalta-se que cocos Gram positivos foram os isolados bacterianos responsáveis por causar a maior parte ICS relacionada ao uso de cateter (68,7 %). Na Tabela 3 é possível observar que o *Staphylococcus coagulase negativa* (SCoN) foi a bactéria responsável por causar 58 (58,6%) casos. Destes, 53 (91,4 %) foram considerados *Staphylococcus coagulase negativa* resistente a oxacilina (MRSCoN). Já para Gram negativos, verificou-se que um dos isolados bacterianos de *Klebsiella* spp. foi identificado fenotipicamente como resistente aos antibióticos carbapenêmicos (KPC).

Tabela 2 – Comparação das características de peso ao nascer, tempo de uso do cateter e desfecho clínico em relação ao parto prematuro de paciente com diagnóstico de ICSRC.

	PREMATURIDADE			<i>p</i> *
	Sim n (%)	Não n (%)	Total n (%)	
<b>Peso ao nascer (gramas)</b>				
≤750	6 (7,8)	0 (0,0)	6 (7,8)	
751 - 1.000	17 (22,1)	0 (0,0)	17 (22,1)	
1.001 - 1.500	27 (35,1)	0 (0,0)	27 (35,1)	<b>0,005</b>
1.501 - 2.500	12 (15,6)	1 (1,3)	13 (16,9)	
≥2.501	10 (13,0)	4 (5,2)	14 (18,2)	
<b>Tempo de uso do cateter (dias)</b>				
≤30	39 (50,6)	5 (6,5)	44 (57,1)	
31 – 60	24 (31,2)	0 (0,0)	24 (31,2)	0,135
≥61	9 (11,7)	0 (0,0)	9 (11,7)	
<b>Desfecho clínico</b>				
Alta	60 (77,9)	5 (76,5)	65 (84,4)	
Transferência	2 (2,6)	0 (0,0)	2 (2,6)	0,610
Óbito	10 (13,0)	0 (0,0)	10 (13,0)	

\* Teste do Qui-quadrado de Person.

Tabela 3 – Perfil dos isolados bacterianos das culturas relacionadas ao uso de cateter.

Microrganismo isolado		Perfil de resistência aos antimicrobianos											
		OXA	GEN	LNZ	CIP	MPM	AMI	CLI	CFM	CPE	CFL	CRO	PIT
N (%)		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
SCoN	58 (58,6)	53 (91,4)	35 (60,3)	0 (0,0)	41 (70,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	44 (75,9)	*	*	*	*	*
<i>Enterococcus</i> spp.	5 (5,1)	*	0 (0,0)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (4,0)	2 (50,0)	2 (50,0)	0 (0,0)	2 (50,0)	*	*	2 (50,0)	*	*	*	*	*
<i>Streptococcus</i> spp.	1 (1,0)	*	*	*	*	*	*	1 (100,0)	*	*	*	*	*
Enterobactérias													
<i>Klebsiella</i> spp.	12 (12,1)	*	1 (8,3)	*	1 (8,3)	1 (8,3)	3 (25,0)	*	1 (8,3)	1 (8,3)	1 (8,3)	1 (8,3)	1 (8,3)
<i>Enterobacter</i> spp.	2 (2,0)	*	1 (50,0)	*	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (50,0)	*	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Serratia</i> spp.	4 (4,0)	*	0 (0,0)	*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	*	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (50,0)	0 (0,0)	1 (25,0)
Não fermentadores													
<i>Pseudomonas</i> spp.	12 (12,1)	*	0 (0,0)	*	0 (0,0)	1 (8,3)	1 (8,3)	*	0 (0,0)	*	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Burkholderia cepacia</i>	1 (1,0)	*	1 (100,0)	*	*	0 (0,0)	1 (100,0)	*	*	*	*	*	0 (0,0)

Legenda: SCoN (*Staphylococcus coagulase negativa*); OXA (Oxacilina); GEN (Gentamicina); LNZ (Linezolida); CIP (Ciprofloxacino); MPM (Meropenem); AMI (Amicacina); CLI (Clindamicina); CFM (Cefepima); CPE (Cefalexina); CFL (Cefalotina); CRO (Ceftriaxona); PIT (Piperacilina + Tazobactam)

## DISCUSSÃO

Apesar do uso de cateter venoso ser vital para o manejo de pacientes críticos, sabe-se que a inserção desses dispositivos médicos resulta em alto risco de desenvolvimento de ICSRC<sup>5</sup>. Além disso, há diversos fatores de risco para a população estudada ser diagnosticada com ICSRC, em que os pacientes neonatos estão mais predispostos a desenvolver essa infecção<sup>3,7,8</sup>.

Em relação à densidade de incidência, os achados do estudo foram inferiores a outro hospital brasileiro, que apresentou 18,6/1000 cateteres/dia<sup>2</sup>, porém foram próximos a estimativa nacional de IRAS neonatal, em que densidade de incidência é de 13,1/1000 cateter/dia<sup>4</sup>. No entanto, os números encontrados nesse estudo foram superiores às taxas médias de incidência em outros países, como na Austrália, em que a taxa é de 2,21/1000 cateter/dias<sup>9</sup>. Já no Vietnã, a densidade de incidência pré-intervenção para redução dos fatores de risco é de 6,31 e pós intervenção diminui para 3,84/1000 cateter/dia<sup>5</sup>.

Dos casos estudados, a ICSRC foi frequente em pacientes do sexo masculino, corroborando com outros estudos<sup>2,3,5</sup>, assim como em pacientes recém-nascidos<sup>3,7</sup>. Devido à imunodepressão e baixa resistência à infecção, os pacientes neonatos são considerados grupo de alto risco de infecções nosocomiais, em que a colocação de um dispositivo invasivo, como o cateter, aumenta o risco de infecções<sup>3, 10</sup>.

Outros fatores de risco para o desenvolvimento de ICSRC são a prematuridade e o baixo peso ao nascer<sup>2-4,8</sup>. Esses dados corroboram com os achados nesse estudo, cuja incidência para o desenvolvimento de um quadro de sepse tardia é inversamente relacionada à idade gestacional e ao peso no nascimento<sup>2</sup>. Ainda, a incidência de sepse em neonatos prematuros pode chegar a ser nove vezes maior quando comparada com bebês a termo, com o peso ao nascer entre 1000g a 1500g<sup>11</sup>. De acordo com um estudo realizado em uma UTI neonatal no Paraná<sup>12</sup>, os recém-nascidos prematuros e com baixo peso foram os mais submetidos à colocação de cateter central de inserção periférica; e quanto maior o número de punções repetidas realizadas, maior a chance de infecção, o que pode ocasionar complicações graves nos bebês prematuros<sup>10</sup>.

Predominantemente, o tempo de utilização de cateter encontrado foi igual ou inferior a 30 dias, cuja média foi de 34,84 dias e quanto maior o tempo de permanência do uso de cateter, maior são as chances de desenvolver a infecção<sup>2,3</sup>. Estudos demonstram que o tempo de permanência do cateter após 35 dias, pode aumentar o risco diário de desenvolvimento de infecção em cerca de 33 % por dia<sup>10,13</sup>. Em contrapartida, Koo e colaboradores<sup>14</sup>, verificaram que houve um aumento significativo do risco de ICSRC em torno de 30 dias de uso do acesso venoso, em que nos primeiros 30 dias em que o cateter esteve *in situ* foi menor do que a taxa após 30 dias. Para evitar complicações, tais como infecção e deslocamento do cateter, é

necessário a realização de manutenção diária do cateter, como a troca de curativos, treinamento da equipe e auditoria interna das técnicas de assepsia para o cuidado dos cateteres<sup>4,5,10</sup>.

O percentual de óbito de pacientes com ICSRC foi de 12,8 % nos pacientes com idade de até 28 dias, corroborando com outros estudos, em que as infecções são a principal causa de desfecho clínico desfavorável no período neonatal tardio (7–27 dias de vida)<sup>1,2</sup>. Outros fatores de risco também podem estar associados aos índices de mortalidade, como a prematuridade, o baixo peso ao nascer e as anomalias congênitas<sup>1,2,4,11</sup>. Ainda, sabe-se que os recém-nascidos que tiveram ICSRC possuem, além da alta taxa de mortalidade, um baixo crescimento e resultados de desenvolvimento neurológico reduzido e internação prolongada<sup>1,15,16</sup>.

O resultado dos isolados bacterianos evidenciaram a predominância de bactérias Gram positivas, como *Staphylococcus* coagulase negativa e *Staphylococcus aureus*, seguidos das bactérias Gram negativas, como *Klebsiella* spp. ou *Pseudomonas* spp., perfil semelhante ao relatado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária<sup>17</sup>, o que reflete no perfil microbiológico das sepses neonatais observadas no Brasil<sup>2,4,18</sup>. Ainda, a predominância dos *Staphylococcus* coagulase negativa como agente patológico das ICSRC em pacientes neonatais é bem evidenciada na literatura<sup>2,4,5,9</sup>, uma vez que é um microrganismo que pertence a microbiota da pele, porém é muito relacionado com infecções causadas por agentes oportunistas em recém-nascidos, principalmente pelo uso de cateteres, o qual é uma porta de entrada para bactérias na corrente sanguínea<sup>1,4,18,19</sup>. Esta contaminação pode ser de origem endógena, da pele ou mucosa do neonato, ou de origem exógena, do ambiente hospitalar ou das mãos dos profissionais de saúde<sup>1</sup>.

Os achados desse estudo mostraram que 53,5 % dos *Staphylococcus* coagulase negativa eram resistentes à oxacilina (MRSCoN), resultado inferior aos encontrados no estudo de Wang e colaboradores<sup>20</sup>, em que as taxas de MRSCoN foram de 69,4 % e 76,6 % em dois hospitais chineses. Esse isolado bacteriano é frequentemente associado à ICSRC em unidades de terapia neonatal, pois possui capacidade de colonizar dispositivos médicos invasivos e de formar biofilme, dificultando o tratamento e o carregamento de diferentes elementos genéticos móveis responsáveis pela resistência, principalmente à oxacilina<sup>19-22</sup>. Este mecanismo de resistência ocorre devido à bactéria patogênica degradar os medicamentos antibacterianos, alterando as proteínas e modificando a permeabilidade da membrana dos antibióticos<sup>21,22</sup>. Diante disso, a linezolida e a vancomicina tem sido medicamentos de escolha para o tratamento dessas infecções em neonatologia<sup>19,20,23</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento epidemiológico das ICSRC, bem como do microrganismo e sua susceptibilidade aos antimicrobianos, contribuiu para a instituição hospitalar conhecer o perfil dos seus pacientes/agente infeccioso e, desta forma, fornecer um prognóstico e tratamento mais eficaz, garantindo a recuperação mais rápida do recém-nascido. Além disso, este estudo auxilia no planejamento e estratégias para minimizar as incidências de infecções e consequente segurança do paciente. Dentre as limitações, cita-se a natureza retrospectiva do estudo, impossibilitando saber o número de pacientes que tiveram coleta de cultura, a fim de comparar com o perfil epidemiológico daqueles em que não houve crescimento na cultura.

Diante do exposto, conclui-se que a ICS relacionada ao uso de cateter foi mais prevalente em pacientes neonatos, do sexo masculino e com peso entre 1.001 e 1.500 gramas. Além disso, a bactéria mais relacionada aos casos dessa ICS foi o *Staphylococcus* coagulase negativa, apresentando altas taxa de resistência à oxacilina.

**Apoio:** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

1. Cho HJ, Cho HK. Central line-associated bloodstream infections in neonates. *Korean J Pediatr.* 2019; 62(3):79. DOI: 10.3345/kjp.2018.07003
2. Freitas FTM, Araújo AFOL, Melo MIS, Romero GAS. Late-onset sepsis and mortality among neonates in a Brazilian Intensive Care Unit: a cohort study and survival analysis. *Epidemiol Infect.* 2019;147:e208. DOI: 10.1017/S095026881900092X.
3. Hu Y, Ling Y, Ye Y, Zhang L, Xia X, Jiang Q et al. Analysis of risk factors of PICC-related bloodstream infection in newborns: implications for nursing care. *Eur J Med Res.* 2021; 26(1): 1-6. DOI: 10.1186/s40001-021-00546-2.
4. Freitas FTM, Viegas APB, Romero GAS. Neonatal healthcare-associated infections in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Arch Public Health.* 2021;79(1):89. DOI: 10.1186/s13690-021-00611-6.
5. Phan HT, Vo TH, Tran HTT, Huynh HTN, Nguyen HTT, Van Nguyen T. Enhanced infection control interventions reduced catheter-related bloodstream infections in the neonatal department of Hung Vuong Hospital, Vietnam, 2011-2012: a pre- and post-intervention study. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020; 9(1):9. DOI: 10.1186/s13756-019-0669-1.
6. Khieosanuk K, Fupinwong S, Tosilakul A, Sricharoen N, Sudjaritruk T. Incidence rate and risk factors of central line-associated bloodstream infections among neonates and children



admitted to a tertiary care university hospital. *Am J Infect Control*. 2022; 50(1):105-107. DOI: 10.1016/j.ajic.2021.07.016.

7. Haughey BS, White SC, Seckeler MD. Catheter-associated bloodstream infection incidence and outcomes in congenital cardiac surgery. *Congenit Heart Dis*. 2019; 14(5):811-813. DOI: 10.1111/chd.12809.
8. Rosado V, Camargos PAM, Anchieta LM, Bouzada MCF, Oliveira GM, Clemente WT, et al. Risk factors for central venous catheter-related infections in a neonatal population - systematic review. *J Pediatr (Rio J)*. 2018; 94(1):3-14. DOI: 10.1016/j.jpmed.2017.03.012.
9. Worth LJ, Daley AJ, Spelman T, Bull AL, Brett JA, Richards MJ. Central and peripheral line-associated bloodstream infections in Australian neonatal and paediatric intensive care units: findings from a comprehensive Victorian surveillance network, 2008-2016. *J Hosp Infect*. 2018; 99(1):55-61. DOI: 10.1016/j.jhin.2017.11.021.
10. Li R, Cao X, Shi T, Xiong L. Application of peripherally inserted central catheters in critically ill newborns experience from a neonatal intensive care unit. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(32):e15837. DOI: 10.1097/MD.00000000000015837.
11. Dhaneria M, Jain S, Singh P, Mathur A, Lundborg CS, Pathak A. Incidence and Determinants of Health Care-Associated Blood Stream Infection at a Neonatal Intensive Care Unit in Ujjain, India: A Prospective Cohort Study. *Diseases*. 2018; 30;6(1):14. DOI: 10.3390/diseases6010014.
12. Rosa IC, Oselame GB, Oliveira EM, Almeida Dutra D, Neves EB. Caracterização do uso do cateter central de inserção periférica em uma UTI Neonatal no Estado do Paraná. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*; 2014; 12(1):536-546. DOI: 10.5892/ruvrd.v12i1.1405
13. Sengupta A, Lehmann C, Diener-West M, Perl TM, Milstone AM. Catheter duration and risk of CLA-BSI in neonates with PICCs. *Pediatrics*. 2010; 125(4):648-53. DOI: 10.1542/peds.2009-2559.
14. Koo KSH, Cooper AB, Monroe EJ, Reis J, Shivaram GM, Zerr DM. Line days as a determinant of central line-associated bloodstream infections in pediatric patients with tunneled femoral peripherally inserted central catheters. *Pediatr Radiol*. 2021; 51(8):1481-1486. DOI: 10.1007/s00247-021-05019-6.
15. Payne V, Hall M, Prieto J, Johnson M. Care bundles to reduce central line-associated bloodstream infections in the neonatal unit: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018; 103(5):F422-F429. DOI: 10.1136/archdischild-2017-313362.
16. Yu X, Yue S, Wang M, Cao C, Liao Z, Ding Y, et al. Risk Factors Related to Peripherally Inserted Central Venous Catheter Nonselective Removal in Neonates. *Biomed Res Int*. 2018; 2018:3769376. DOI: 10.1155/2018/3769376.
17. ANVISA, 2020. Boletim Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 23 - Avaliação Nacional dos indicadores de IRAS e RM – 2020. Em: <<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiaZGI3NzEwMWYtMDI1Yy00ZDE1LWI0YzIt>

Y2NiNDdmODZjZDgzIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVIZGQ4MSJ9&pageName=ReportSectionac5c0437dbe709793b4b>. Acesso em 07 de março de 2022.

18. Romanelli RM, Anchieta LM, Bueno e Silva AC, de Jesus LA, Rosado V, Clemente WT. Empirical antimicrobial therapy for late-onset sepsis in a neonatal unit with high prevalence of coagulase-negative *Staphylococcus*. *J Pediatr (Rio J)*. 2016; 92(5):472-8. DOI: 10.1016/j.jpmed.2016.01.008.
19. Joubert IA, Otto M, Strunk T, Currie AJ. Look Who's Talking: Host and Pathogen Drivers of *Staphylococcus epidermidis* Virulence in Neonatal Sepsis. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(2):860. DOI: 10.3390/ijms23020860.
20. Wang S, Chen S, Feng W, Sun F, Wang Q, Zhu K, Song J. Clinical Characteristics of Nosocomial Bloodstream Infections in Neonates in Two Hospitals, China. *J Trop Pediatr*. 2018; 64(3):231-236. DOI: 10.1093/tropej/fmx054.
21. Miragaia, M. Factors contributing to the evolution of Meca-mediated  $\beta$ -lactam resistance in staphylococci: update and new insights from whole genome sequencing (WGS). *Front. Microbiol.*, 2018; 2723. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02723.
22. Ahmed DM, Messih MAWA, Ibrahim NH, Meabed MH, Abdel-Salam SM. Frequency of *icaA* and *icaD* determinants and biofilm formation among coagulase-negative staphylococci associated with nasal carriage in neonatal intensive care units. *Germs*. 2019; 9(2):61-70. DOI: 10.18683/germs.2019.1159.
23. Sajjanar V, Premalatha DE. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of Coagulase Negative *Staphylococcus* (CoNS) in neonatal septicemia. *Indian J Microbiol Res*. 2018; 5(2):236-239. DOI: 10.18231/2394-5478.2018.0049.

## **ARTIGO II**

### **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA QUITOSANA ASSOCIADAS A ÓLEOS ESSENCIAIS NA APLICAÇÃO BIOMÉDICA: uma revisão integrativa**

Artigo publicado na Revista *Research, Society and Development*

Qualis Capes: C

Aceito em 16 de outubro de 2022

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA QUITOSANA CONTENDO A ÓLEOS ESSENCIAIS NA APLICAÇÃO  
BIOMÉDICA: uma revisão integrativa**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHITOSAN ASSOCIATED WITH ESSENTIAL OILS IN BIOMEDICAL  
APPLICATION: an integrative review**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL QUITOSANO ASOCIADO A ACEITES ESENCIALES EN APLICACIÓN  
BIOMÉDICA: una revisión integradora**

Betina Brixner<sup>1</sup>, Chana de Medeiros da Silva<sup>1</sup>, Liliame Damaris Pollo<sup>2</sup>, Jane Dagmar Pollo Renner<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

## **RESUMO**

Atualmente o uso de biomateriais voltados à área da saúde está em constante evolução. Sabe-se que o desenvolvimento de materiais utilizando a quitosana, polímero biocompatível e com ação antimicrobiana, associados aos óleos essenciais, substância natural com inúmeras propriedades biológicas e antimicrobiana, vêm sendo estudados. Diante disso, buscou-se verificar na literatura estudos relacionados à atividade antimicrobiana de biomateriais à base de quitosana associados a diferentes óleos essenciais, voltados a área da saúde. Foi realizada uma revisão de literatura nas bases de dados PubMed e Science Direct, no período de 2018 a 2022, utilizando os descritores "*Chitosan*" AND "*Essential Oil*" AND "*Antimicrobial Activity*" AND "*Dressing*". Foram encontrados 305 artigos na pesquisa do banco de dados, destes, foram incluídos no estudo oito artigos, em que foi possível dividi-los conforme o produto final em: (1) filme; (2) criogel e; (3) *scaffolds* nanofibrosos. Ainda, as técnicas para a realização das análises antimicrobianas foram teste de difusão em ágar e concentração inibitória/microbicida mínima. Foi possível verificar que os biomateriais à base de quitosana por si só já apresentaram inibição das cepas microbianas testadas e, quando associados aos óleos essenciais, houve o sinergismo da ação frente às cepas, os tornando promissores para a aplicabilidade biomédica.

**Palavras-chave:** Biomateriais; Quitosana, Óleo Essencial; Atividade Antimicrobiana

## **ABSTRACT**

Currently, the use of biomaterials in the health area is constantly evolving. It's known that the development of materials using chitosan, a biocompatible polymer with antimicrobial action, associated with essential oils, a natural substance with numerous

biological and antimicrobial properties, has been studied. Therefore, we sought to verify in the literature studies related to the antimicrobial activity of chitosan-based biomaterials associated with different essential oils, aimed at the health area. Literature review in PubMed and Science Direct databases, from 2018 to 2022, using the descriptors "Chitosan" AND "Essential Oil" AND "Antimicrobial Activity" AND "Dressing". 305 articles were found in the database search. Of these, eight articles were included in the study, in which it was possible to divide them according to the final product in: (1) Film; (2) Cryogel and; (3) Nanofibrous scaffolds. Also, the techniques for performing the antimicrobial analyzes were through the agar diffusion test and minimum inhibitory/microbicide concentration. It was possible to verify that the chitosan-based biomaterials alone already showed inhibition of the microbial strains tested and, when associated with essential oils, there was a synergism of action against the strains, making them promising for biomedical applicability.

**Keywords:** Biomaterials; Chitosan; Essential Oil; Antimicrobial Activity

## RESUMEN

Actualmente, el uso de biomateriales en el área de la salud está en constante evolución. Se sabe que se ha estudiado el desarrollo de materiales utilizando quitosano, un polímero biocompatible con acción antimicrobiana, asociado a aceites esenciales, sustancia natural con numerosas propiedades biológicas y antimicrobianas. Por lo tanto, buscamos verificar en la literatura estudios relacionados con la actividad antimicrobiana de biomateriales a base de quitosano asociados con diferentes aceites esenciales, dirigidos al área de la salud. Revisión de literatura en las bases de datos PubMed y Science Direct, de 2018 a 2022, utilizando los descriptores "*Chitosan*" AND "*Essential Oil*" AND "*Antimicrobial Activity*" AND "*Dressing*". Se encontraron 305 artículos en la búsqueda en la base de datos. De estos, ocho artículos fueron incluidos en el estudio, en los que fue posible dividirlos según el producto final en: (1) Cine; (2) Criogel y; (3) *Scaffolds* nanofibrosos. Asimismo, las técnicas para realizar los análisis antimicrobianos fueron a través de la prueba de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria/microbicida. Se pudo verificar que los biomateriales a base de quitosano solos ya mostraron inhibición de las cepas microbianas probadas y, cuando se asociaron con aceites esenciales, hubo un sinergismo de acción contra las cepas, haciéndolos prometedores para la aplicabilidad biomédica.

**Palabras llave:** Biomateriales; Quitosano, Aceite Esencial; Actividad antimicrobiana

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais e a sua aplicabilidade biomédica na regeneração de tecidos danificados por doenças e/ou lesões é um tema que está cada vez mais sendo estudado. (MADNI et al., 2021; SULTANKULOV et al., 2019). Nas últimas décadas, os polímeros naturais vêm se destacando devido à sua biocompatibilidade e semelhança estrutural com os componentes da matriz extracelular (RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ et al., 2015; DE MASI et al., 2019). Além disso, a disponibilidade abundante e a atividade biológica de cada biopolímero específico, os torna promissores para o desenvolvimento de novos materiais, sejam eles de origem totalmente naturais ou semi-sintéticos (RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ et al., 2015; SULTANKULOV et al., 2019).

Dentre estes, a quitosana, um polissacarídeo catiônico linear derivado da quitina, vem se destacando. É o segundo biopolímero mais abundante na natureza e pode ser encontrada nas paredes celulares de fungos e algas e exoesqueletos de insetos, porém a sua maior fonte de obtenção é através da desmineralização e desproteínização das conchas de crustáceos (BAKSHI et al., 2020; MATICA et al., 2019). Considerando suas propriedades biológicas, a quitosana vem apresentando um amplo espectro antifúngico e antibacteriano frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas (CONFEDERAT et al., 2021). Apesar de seu mecanismo de ação não estar totalmente elucidado, a quitosana provou ser ativa contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* (AMALRAJ et al. 2020; BARZEGAR et al., 2021; MATICA et al., 2019; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ et al., 2015; SANTOS et al., 2019).

Aliado aos benefícios da quitosana, se tem a associação desse biopolímero aos óleos essenciais (ESPÍNDOLA SOBCZYK et al., 2021; SANTOS et al., 2019). Estes são misturas de compostos voláteis, caracterizados por um forte aroma, extraídos de plantas e/ou especiarias (AMALRAJ et al., 2020; ORCHARD et al., 2017; SANTOS et al., 2019). Atualmente, o interesse por óleos essenciais para aplicação no mercado farmacêutico se deve aos seus inúmeros benefícios farmacológicos e os diversos compostos presentes nos mesmos, responsáveis pela sua ação antimicrobiana (ALJAAFARI et al., 2021; ORCHARD et al., 2017). Dos diversos modos de ação dos óleos essenciais, acredita-se que a maioria atue na membrana celular e na parede celular microbiana (EL-TARABILY et al., 2021; XU et al., 2016).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão integrativa sobre a atividade antimicrobiana de biomateriais à base de quitosana associados a diferentes óleos essenciais, voltados para aplicações biomédicas.

## MÉTODOS

Foi realizada uma pesquisa de revisão de literatura, a fim de discutir e ampliar os conhecimentos sobre os métodos utilizados para determinar a atividade antimicrobiana de biomateriais à base de quitosana e óleos essenciais. Os artigos foram identificados por meio de uma pesquisa na base de dados PubMed e Science Direct, realizada no mês de abril de 2022, utilizando os descritores "*Chitosan*" AND "*Essential Oil*" AND "*Antimicrobial Activity*" AND "*Dressing*".

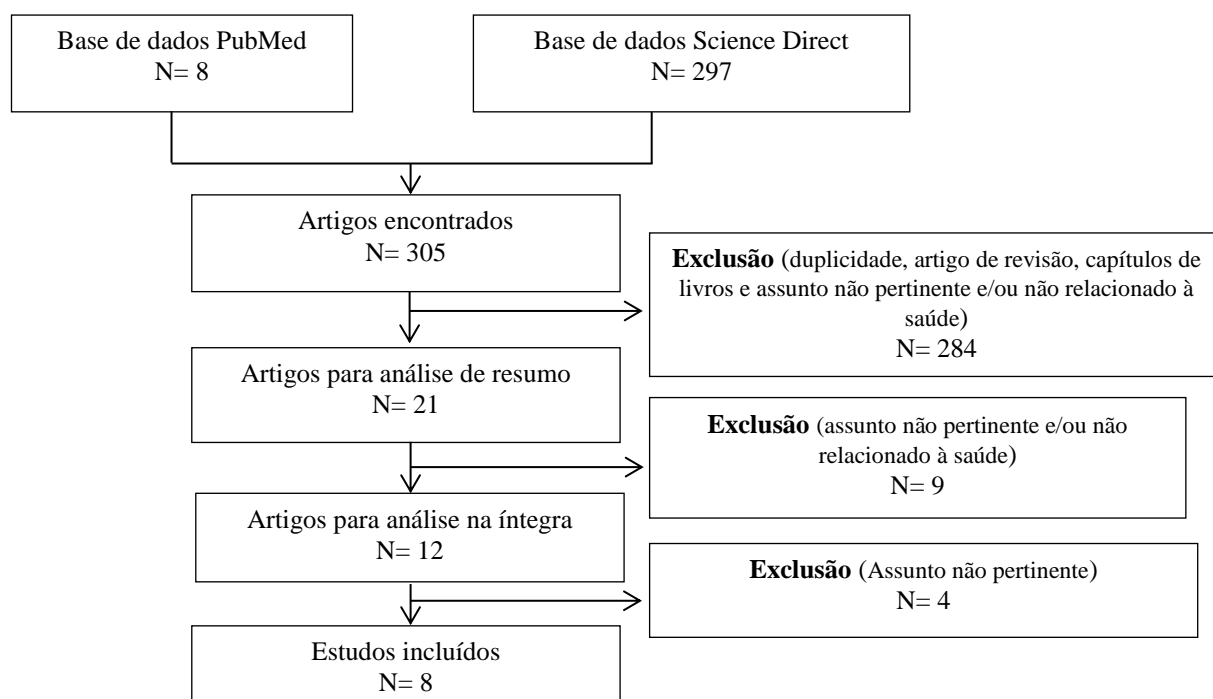
A busca foi realizada em artigos publicados a partir de 2018 até abril de 2022, em que foram incluídos estudos no idioma inglês. Primeiramente, todos os títulos das bases de dados foram lidos e analisados, excluindo os repetidos, os que não se tratava de artigo de pesquisa, os que não eram relacionados à área da saúde e os que não apresentam tema pertinente a pesquisa (materiais poliméricos que não continham quitosana ou sem associação a óleo essencial). Na sequência, foram lidos todos os resumos e aplicados os critérios de exclusão para aqueles que não eram relacionados à área da saúde e que não apresentam tema pertinente com a pesquisa. Por fim, foi realizada a leitura dos textos completos e aplicados os critérios de exclusão para aqueles que não apresentam tema pertinente à pesquisa. A busca de artigos foi articulada através do uso de material polimérico contendo quitosana, voltada à área biomédica, associada a óleos essenciais, visando conhecer as técnicas utilizadas para a detecção da atividade antimicrobiana e a ação dos biopolímeros contendo óleo essencial frente aos microrganismos.

Os artigos foram organizados em um quadro síntese para facilitar a análise, com as seguintes informações: autor, ano, método da análise antimicrobiana, resultados da atividade antimicrobiana e principais conclusões da atividade antimicrobiana. A partir da análise detalhada dos artigos selecionados, considerando o produto final desenvolvido, foi possível classificá-los em três categorias com subtemas que reúnem os dados do tema proposto.

## RESULTADOS

Foram selecionados 241 artigos, sendo que nove destes estavam indexados na base de dados PubMed e 232 no Science Direct. Após as análises, foram incluídos oito artigos no presente estudo (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma da seleção dos artigos



Fonte: Autores

Os dados dos artigos incluídos neste estudo foram organizados de acordo com a autoria, ano de publicação, método da análise antimicrobiana, resultados da atividade antimicrobiana e principais achados (Quadro 1).

**Quadro 1:** Síntese de informações, métodos, resultados e principais conclusões da atividade antimicrobiana contidos nos artigos incluídos no estudo.

Autor (Ano)	Método da análise antimicrobiana	Resultados da atividade antimicrobiana	Principais conclusões da atividade antimicrobiana
<b>FILME</b>			
Espíndola Sobczyk et al. (2021)	Método de difusão em ágar modificado, em que os halos foram medidos em cinco medidas aleatórias, em volta do disco da amostra, desde o filme (3 cm de diâmetro) até o início da zona de inibição, em que foi possível observar o crescimento de bactérias.	<p><b>- Filme de quitosana/alginato</b> <i>S. aureus</i>: 3,44 ± 0,59 mm; <i>E. coli</i>: 1,88 ± 0,53 mm</p> <p><b>- Filme de quitosana/alginato + OE de orégano 0,25%</b> <i>S. aureus</i>: 5,78 ± 0,74 mm; <i>E. coli</i>: 2,99 ± 0,45 mm</p> <p><b>- Filme de quitosana/alginato + OE de orégano 0,5%</b> <i>S. aureus</i>: 10,03 ± 1,25 mm; <i>E. coli</i>: 5,34 ± 0,84 mm</p>	Os filmes exibiram atividade antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> sendo que nos filmes contendo OE de orégano apresentaram melhor desempenho contra ambas as bactérias, mostrando a maior eficiência do óleo como agente antimicrobiano.
Amalraj et al. (2020)	Método de difusão em ágar em que a atividade antimicrobiana foi avaliada através da média da medida da zona de inibição do filme (1g) do microrganismo testado.	<p><b>- Filme de PVA/ goma arábica/quitosana</b> <i>B. cereus</i>: 6,32 ± 1,23 mm; <i>S. aureus</i>: 5,48 ± 1,31 mm; <i>E. coli</i>: 4,14 ± 1,20 mm; <i>S. typhimurium</i>: 4,81 ± 1,41 mm</p> <p><b>- Filme de PVA/goma arábica/quitosana/OE pimenta preta</b> <i>B. cereus</i>: 20,43 ± 2,04 mm; <i>S. aureus</i>: 18,73 ± 1,76 mm; <i>E. coli</i>: 16,82 ± 1,27 mm; <i>S. typhimurium</i>: 17,43 ± 1,36 mm</p> <p><b>- Filme de PVA/goma arábica/quitosana + OE gengibre</b> <i>B. cereus</i>: 17,83 ± 1,77 mm; <i>S. aureus</i>: 16,34 ± 1,54 mm; <i>E. coli</i>: 14,59 ± 1,14 mm; <i>S. typhimurium</i>: 15,21 ± 1,74 mm</p>	O OE de pimenta preta e o OE de gengibre quando incorporados nos filmes à base de PVA/goma arábica/quitosana inibiram significativamente o crescimento das bactérias testadas, sendo considerada uma alternativa promissora para aplicação em curativos.
Santos et al. (2019)	Método de difusão em ágar, em que foram testadas as emulsões filmogênicas, colocadas em discos de papel filtro (5mm de diâmetro), cujos resultados foram obtidos pela média das duas zonas de inibição medidas em 24 h e 48 h.	<p><b>- Emulsões Filmogênica de Quitosana</b> <i>S. aureus</i>: 8,5 mm; <i>E. coli</i>: 7,0 mm; <i>C. albicans</i>: 7,5 mm</p> <p><b>- Emulsões Filmogênica de Quitosana + OE cravo-da-índia 1%</b> <i>S. aureus</i>: 0,0 mm; <i>E. coli</i>: 7,0 mm; <i>C. albicans</i>: 8,0 mm</p> <p><b>- Emulsões Filmogênica de Quitosana + OE cravo-da-índia 3%</b> <i>S. aureus</i>: 9,0 mm; <i>E. coli</i>: 8,0 mm; <i>C. albicans</i>: 7,0 mm</p> <p><b>- Emulsões Filmogênica de Quitosana + OE melaleuca 1%</b> <i>S. aureus</i>: 6,0 mm; <i>E. coli</i>: 9,0 mm; <i>C. albicans</i>: 7,0 mm</p> <p><b>- Emulsões Filmogênica de Quitosana + OE melaleuca 3%</b> <i>S. aureus</i>: 0,0 mm; <i>E. coli</i>: 8,0 mm; <i>C. albicans</i>: 9,0 mm</p>	As emulsões filmogênicas apresentaram propriedades antimicrobianas em diferentes espectros de ação. Com isso, os resultados sugerem que filmes de quitosana incorporados aos OE de cravo-da-índia e de melaleuca podem ser empregados para aplicações de cicatrização de feridas.



## Continuação Quadro 1

<b>CRIOGEL</b>			
Bölgen et al. (2020)	Método de difusão em ágar, utilizando discos de papel filtro, em que a atividade antimicrobiana foi avaliada através da medida da zona de inibição do microrganismo testado.	- <b>Quitosana pura</b> <i>E. hirae</i> : 0,0 mm; <i>B. cereus</i> : 0,0 mm; <i>S. aureus</i> : 0,0 mm; <i>L. pneumophila</i> : 0,0 mm; <i>P. aeruginosa</i> : 0,0 mm; <i>E. coli</i> : 0,0 mm; <i>C. albicans</i> : 0,0 mm	A atividade antimicrobiana dos criogéis associados ao OE de erva de São João demonstraram que possuem excelentes efeitos antimicrobianos contra <i>E. coli</i> e <i>L. pneumophila</i> . No geral, os resultados demonstraram que os criogéis de quitosana incorporados com OE de erva de São João podem ser usados como curativos promissores para a cicatrização de feridas.
		- <b>Quitosana + OE erva de São João 2,5%</b> <i>E. hirae</i> : 0,0 mm; <i>B. cereus</i> : 0,0 mm; <i>S. aureus</i> : 7,0 mm; <i>L. pneumophila</i> : 8,0 mm; <i>P. aeruginosa</i> : 7,0 mm; <i>E. coli</i> : 8,0 mm; <i>C. albicans</i> : 7,0 mm	
		- <b>Quitosana + OE erva de São João 5%</b> <i>E. hirae</i> : 7,0 mm; <i>B. cereus</i> : 7,0 mm; <i>S. aureus</i> : 8,0 mm; <i>L. pneumophila</i> : 9,0 mm; <i>P. aeruginosa</i> : 8,0 mm; <i>E. coli</i> : 9,0 mm; <i>C. albicans</i> : 8,0 mm	
		- <b>Quitosana + OE erva de São João 10%</b> <i>E. hirae</i> : 9,0 mm; <i>B. cereus</i> : 8,0 mm; <i>S. aureus</i> : 10,0 mm; <i>L. pneumophila</i> : 11,0 mm; <i>P. aeruginosa</i> : 10,0 mm; <i>E. coli</i> : 12,0 mm; <i>C. albicans</i> : 10,0 mm	
		- <b>Quitosana + OE erva de São João 20%</b> <i>E. hirae</i> : 10,0 mm; <i>B. cereus</i> : 10,0 mm; <i>S. aureus</i> : 11,0 mm; <i>L. pneumophila</i> : 13,0 mm; <i>P. aeruginosa</i> : 12,0 mm; <i>E. coli</i> : 14,0 mm; <i>C. albicans</i> : 10,0 mm	
<b>SCAFFOLDS NANOFIBROSOS</b>			
Barzegar et al. (2021)	CIM e CMM, em que foram contadas as colônias viáveis.	- <b>Quitosana/PVA+ OE <i>Satureja mutica</i></b> CIM = <i>S. aureus</i> : 4 µL/mL; <i>E. coli</i> : 2 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i> : 4 µL/mL; <i>C. albicans</i> : 1 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i> : 0,0625 µL/mL CMM = <i>S. aureus</i> : 4 µL/mL; <i>E. coli</i> : 2 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i> : 16 µL/mL; <i>C. albicans</i> : 2 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i> : 0,0625 µL/mL	Através da concentração microbicida mínima foi possível verificar o aumento da atividade antimicrobiana dos <i>scaffolds</i> contra todos os microrganismos testados, podendo ser potencialmente utilizados como curativos para feridas.

<p>Râpă et al. (2021)</p>	<p>Método de difusão em ágar, em que discos de papel esterilizado (6 mm) foram colocados nas placas e uma alíquota (50 µL) das amostras foi adicionada. Teste realizado em triplicata, em que a atividade antimicrobiana foi avaliada através das medidas das zonas de inibição do microrganismo testado, após em 24 h e 48 h de incubação.</p>	<p>- <b>Quitossana/Colágeno (TB)</b>  <i>S. aureus</i>: 12,94 ± 0,31 mm; <i>E. coli</i>: 17,21 ± 0,04 mm; <i>E. faecalis</i>: 0,0 mm; <i>S. typhimurium</i>: 17,47 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 18,29 ± 0,28 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,34 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 23,64 ± 0,27 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TB) + OE de Endro</b>  <i>S. aureus</i>: 11,19 ± 0,18 mm; <i>E. coli</i>: 19,09 ± 0,31 mm; <i>E. faecalis</i>: 16,12 ± 0,08 mm; <i>S. typhimurium</i>: 15,33 ± 0,35 mm; <i>C. albicans</i>: 15,69 ± 0,07 mm; <i>C. glabrata</i>: 26,53 ± 0,24 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 16,72 ± 0,47 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TB) + OE de Erva-cidreira</b>  <i>S. aureus</i>: 17,39 ± 0,21 mm; <i>E. coli</i>: 25,09 ± 0,11 mm; <i>E. faecalis</i>: 26,70 ± 0,12 mm; <i>S. typhimurium</i>: 18,87 ± 0,54 mm; <i>C. albicans</i>: 17,41 ± 0,31 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,54 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 15,62 ± 0,32 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TB) + OE de Endro + OE de Erva-cidreira</b>  <i>S. aureus</i>: 26,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 22,79 ± 0,41 mm; <i>E. faecalis</i>: 25,28 ± 0,51 mm; <i>S. typhimurium</i>: 13,19 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 19,61 ± 0,23 mm; <i>C. glabrata</i>: 30,35 ± 0,33 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 14,68 ± 0,22 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TC)</b>  <i>S. aureus</i>: 20,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 0,0 mm; <i>E. faecalis</i>: 28,56 ± 0,23 mm; <i>S. typhimurium</i>: 29,88 ± 0,27 mm; <i>C. albicans</i>: 19,05 ± 0,17 mm; <i>C. glabrata</i>: 16,03 ± 0,47 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 20,03 ± 0,08 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TC) + OE de Endro</b>  <i>S. aureus</i>: 11,19 ± 0,18 mm; <i>E. coli</i>: 19,09 ± 0,31 mm; <i>E. faecalis</i>: 16,12 ± 0,08 mm; <i>S. typhimurium</i>: 15,33 ± 0,35 mm; <i>C. albicans</i>: 15,69 ± 0,07 mm; <i>C. glabrata</i>: 26,53 ± 0,24 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 16,72 ± 0,47 mm</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TC) + OE de Erva-cidreira</b>  <i>S. aureus</i>: 17,39 ± 0,21 mm; <i>E. coli</i>: 25,09 ± 0,11 mm; <i>E. faecalis</i>: 26,70 ± 0,12 mm; <i>S. typhimurium</i>: 18,87 ± 0,54 mm; <i>C. albicans</i>: 17,41 ± 0,31 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,54 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 15,62 ± 0,32 mm.</p> <p>- <b>Quitossana/Colágeno (TC) + OE de Endro + OE de Erva-cidreira</b>  <i>S. aureus</i>: 26,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 22,79 ± 0,41 mm; <i>E. faecalis</i>: 25,28 ± 0,51 mm; <i>S. typhimurium</i>: 13,19 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 19,61 ± 0,23 mm; <i>C. glabrata</i>: 30,35 ± 0,33 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 14,68 ± 0,22 mm</p>	<p>A atividade antimicrobiana mostrou que as nanofibras à base de colágeno bovino hidrolisado com quitossana são eficientes contra <i>S. aureus</i>, <i>E. coli</i>, <i>S. typhimurium</i>, <i>C. albicans</i>, <i>C. glabrata</i> e <i>A. brasiliensis</i>. A eficiência da atividade antimicrobiana aumentou para nanofibras de colágeno bovino hidrolisado e quitossana carregadas com OE contra <i>S. aureus</i>, <i>E. faecalis</i>, <i>C. albicans</i> e <i>C. glabrata</i>. As nanofibras à base de colágeno hidrolisado de pele de coelho e quitossana foram muito eficientes contra todas as cepas testadas, exceto para <i>E. coli</i>. A eficiência antimicrobiana aumentou para o hidrolisado de colágeno de coelho e quitossana carregado com OE para o <i>S. aureus</i>.</p>
---------------------------	---	--	--

Lamarra et al. (2020)	Método de difusão em ágar, utilizando discos dos <i>scaffolds</i> (1,5 cm de diâmetro) em que a atividade antimicrobiana foi avaliada através da medida da zona de inibição do microrganismo testado, após 24 e 48 h.	<b>Quitosana/PVA + OE Cabreúva</b> <i>C. albicans</i> : 1,9 ± 0,07 cm; <i>E. coli</i> : 1,6 ± 0,06 cm; <i>S. aureus</i> : 2,1 ± 0,09 cm; <i>S. epidermidis</i> : 1,8 ± 0,10 cm	As nanofibras à base de PVA e quitosana foram um veículo para a liberação controlada do OE de cabreúva e demonstrou ter maior atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram positivas, quando comparadas aos outros microrganismos, apresentando potencial para ser aplicado na área biomédica.
Ardekani et al. (2018)	CIM e CMM, em que foram contadas as colônias viáveis.	<b>Quitosana/PVA/gelatina + OE <i>Zataria multiflora</i></b> CIM = <i>S. aureus</i> : 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i> : 2 µL/mL; <i>C. albicans</i> : 0,062 µL/mL CMM = <i>S. aureus</i> : 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i> : 2 µL/mL; <i>C. albicans</i> : 0,5 µL/mL	As nanofibras associadas com 10 % de óleo essencial de <i>Z. multiflora</i> inibiu completamente o crescimento de <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>C. albicans</i> após 24 h de incubação e são promissoras para serem empregadas em curativos, em cirurgias e queimaduras.

Fonte: Autores

Legenda: OE (óleo essencial); PVA (álcool polivinílico); TB (Tendão bovino); TC (Tendão de coelho); CIM (Concentração Inibitória Mínima); CMM (Concentração Microbicida Mínima).

## DISCUSSÃO

Atualmente, aumentou o interesse em desenvolver novos biomateriais antimicrobianos eficazes, devido ao constante desafio e preocupação que se enfrenta para o tratamento de doenças infecciosas (RODRIGUEZ-VAZQUEZ et al., 2019; GEOGETA et al., 2021; MADNI et al., 2021; SULTANKULOV et al., 2019). A quitosana é um dos polímeros naturais que vem sendo amplamente utilizado na produção de novos biomateriais (DE MAIS et al., 2019; GEOGETA et al., 2021; MADNI et al., 2021; MATICA et al., 2019; SANTOS et al., 2019). Dentre as propriedades que a quitosana possui, citam-se: biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade, não antigenicidade e suas diversas propriedades biológicas, tais como a atividade antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, antiinflamatória, antidiabética, imunestimulante (MADNI et al., 2021; SHARIATINIA, 2019; SULTANKULOV et al., 2019).

Através da análise dos resultados dos artigos selecionados, foi possível verificar que os biomateriais contendo quitosana, sem a adição de óleos essenciais, já apresentaram potencial antimicrobiano frente a algumas cepas microbianas (AMALRAJ et al., 2020; ESPÍNDOLA SOBCZYK et al., 2021; RÂPĂ et al., 2021; SANTOS et al., 2019). Sabe-se que existem inúmeros fatores que influenciam a atividade antimicrobiana da quitosana e dentre os principais citam-se molecular massa molar, o grau de desacetilação e o pH (MATICA et al., 2019; RIAZ RAJOKAA et al., 2020).

A massa molar da quitosana interfere diretamente no modo de ação contra as bactérias. Para bactérias Gram positivas, quanto maior a massa molar mais eficaz é a ação antimicrobiana, enquanto que para bactérias Gram negativas, a ação antimicrobiana é melhor para a quitosana de menor massa molar (CONFEDERAT et al., 2021; NGO et al., 2015). O mecanismo de ação da quitosana, carregada positivamente, irá depender das interações eletrostáticas com os componentes da parede celular bacteriana, carregados negativamente (CONFEDERAT et al., 2021). Nas bactérias Gram positivas essa interação é atribuída aos ácidos teicóicos, ligados à camada do peptidoglicano, enquanto que nas Gram negativas é devido à presença de lipopolissacarídeos (LPSs), na camada externa bacteriana, podendo bloquear as trocas intra/extracelulares, romper a parede celular ou vazar o conteúdo citoplasmático (MATICA et al., 2019). O grau de desacetilação da quitosana tem um efeito importante sobre as propriedades antibacterianas, em que quanto maior for esse grau de desacetilação, maior será a sua solubilidade em água, resultando em maior carga positiva após a protonação do grupamento amino da quitosana e, conseqüentemente, maior poder da atividade antimicrobiana (JUNG et al., 2010; RIAZ RAJOKAA et al., 2020). Outro fator importante é em relação ao pH, uma vez que a quitosana é solúvel em meio aquoso ácido, tornando as moléculas de quitosana poliacetônicas em pH inferior ao valor de pKa, ocasionando na protonação do grupo amino da quitosana (CONFEDERAT et al., 2021; RIAZ RAJOKAA et al., 2020). Desta maneira, a interação entre a quitosana protonada, carregada positivamente, com a membrana celular microbiana, carregada negativamente, pode levar ao extravasamento dos componentes intracelulares (SIKORSKI et al., 2022).

Em contrapartida, no estudo de Bölgen et al. (2020), quando testado o criogel contendo somente a quitosana pura, este não apresentou atividade antimicrobiana frente às cepas de bactérias Gram positivas, Gram negativas e levedura. Na formulação desse biomaterial, foi utilizada quitosana de baixa massa molar, solubilizada em ácido acético, porém os autores não

apresentaram a informação do grau de desacetilação da quitosana utilizada. A ausência da atividade antimicrobiana da quitosana também foi relatada em outros estudos (FOSTER; BUTT, 2010; INTA; YOKSAN; LIMTRAKUL, 2014), os quais verificaram que a quitosana, na forma de filmes secos, são incapazes de interagir com as células bacterianas, uma vez que, para protonar os grupos amino da quitosana e assim torná-los ativos para a interação com a parede celular dos microrganismos, o meio precisa estar fluido.

Em relação aos óleos essenciais, seu uso associado ao polímero de quitosana já vem sendo amplamente estudado (EL-TARABILY et al., 2021; HADIDI et al., 2020; RÂPĂ et al., 2021; SANTOS et al., 2019), demonstrando preferência na utilização de materiais vegetais naturais considerados biocompatíveis e biodegradáveis (INDURKAR et al., 2021). As inúmeras propriedades farmacológicas que os óleos essenciais possuem os promovem para ser amplamente utilizados na medicina regenerativa, uma vez que podem acelerar o processo de cicatrização de feridas, reduzir os processos infecciosos e inflamatórios, além de apresentar potencial anticancerígeno, antidiabético, antioxidante e cardiovascular (JUGREET et al., 2020). Ainda, os óleos essenciais colaboram com o processo de mistura aos biopolímeros durante a fabricação de *scaffolds*, podendo substituir componentes sintéticos fundamentais no processo de desenvolvimento de biomateriais, como o PVA (álcool polivinílico), o qual é utilizado como agente plastificante (LIU et al., 2019; REN et al., 2022).

Referente à ação antimicrobiana, a mesma depende principalmente dos seus constituintes químicos dos óleos essenciais, em que cada composto pode apresentar um mecanismo diferente de atividade antibacteriana, de acordo com as reações bioquímicas desempenhadas nas células das bactérias (ALJAAFARI et al., 2020; WIŃSKA et al., 2019). Além disso, o mecanismo de ação também poderá se diferenciar de acordo com a estrutura da membrana celular bacteriana, a qual se difere das bactérias Gram positivas e Gram negativas (ALJAAFARI et al., 2020; 2019; WIŃSKA et al., 2019). Dentre os diversos mecanismos de atividade antimicrobiana propostos, o principal é que os óleos essenciais desestabilizam a estrutura celular, levando à ruptura da membrana e ao aumento da permeabilidade; através disso, ocorre a interrupção de diversas atividades celulares, incluindo a produção de energia, transporte de membrana e outras funções reguladoras metabólicas (SAAD et al., 2013; TARIQ et al., 2019). Em relação aos fungos, o processo é semelhante, em que os óleos essenciais são capazes de penetrar e romper a parede celular e as membranas do protoplasma através de um processo de permeabilização, o que resulta em uma desintegração das membranas mitocondriais (ALEKSIC; KNEZEVIC, 2014; TARIQ et al., 2019).

Através dos artigos selecionados nessa revisão de literatura, foi possível verificar que houve um efeito sinérgico com a associação da quitosana aos óleos essenciais, seja com um ou dois óleos essenciais combinados, resultando em uma melhor ação antimicrobiana para os biomateriais. Diante disso, se demonstra a relevância em estar associando óleos essenciais ao biopolímero de quitosana (SANTOS et al., 2019). Ao considerar a concentração dos óleos essenciais, nos estudos de Espíndola Sobczyk e colaboradores (2021) e de Bölgen e colaboradores (2020), os autores observaram que quanto maior a concentração do óleo essencial incorporado, maior é a atividade antimicrobiana frente às cepas testadas. Isso possivelmente ocorre pela presença dos compostos químicos presentes no óleo, cujo teor é aumentado para aqueles que possuem relação com a ação antimicrobiana, demonstrando sua eficácia para essa propriedade farmacológica (ESPÍNDOLA SOBCZYK et al., 2021).

Em relação aos testes escolhidos pelos autores para a realização da atividade antimicrobiana, foi possível verificar a predominância do método de difusão em ágar. Este é o método mais utilizado nos laboratórios de microbiologia clínica para averiguar a susceptibilidade antimicrobiana, uma vez que é uma técnica simples e de baixo custo (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021; BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). Essa análise poderá ocorrer por difusão em disco ou em poço, ambas empregadas para avaliar as propriedades antimicrobianas dos biopolímeros, bem como de agentes naturais ativos incorporados em soluções filmogênicas de quitosana (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021; AMALRAJ et al., 2020; ESPÍNDOLA SOBCZYK et al., 2021; SANTOS et al., 2019). Através da realização desta técnica, com a inoculação de microrganismos na superfície do ágar e a colocação das amostras (filmes, soluções filmogênicas e outros), as placas são incubadas por 24-48 horas em temperatura ideal para cada microrganismo, cujo resultado ocorre através da leitura do diâmetro do halo de inibição ao redor da amostra (perímetro livre de colônias) e através da verificação visual de crescimento bacteriano abaixo do disco (área de contato direto da amostra com a superfície do ágar) (ABDOLLAHZADEH; NEMATOLLAHI; HOSSEINI, 2021; ROJAS-GRAÛ et al., 2007). Sendo assim, as zonas de inibição, seja ao redor ou abaixo da amostra (filme), são consideradas positivas/válidas para o resultado de atividade antimicrobiana (JRIDI et al., 2014).

Outra técnica utilizada foi a concentração inibitória mínima, método de diluição que possibilita estimar a concentração do microrganismo testado, seja por diluição em ágar ou meio em caldo, através de macro ou microdiluição (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). A concentração inibitória mínima é a concentração mais baixa de agente antimicrobiano que inibe completamente o crescimento dos microrganismos, nos tubos ou poços de microdiluição, detectados a olho nu (BENKOVA; SOUKUP; MAREK, 2020). Além disso, também se tem a determinação da concentração bactericida mínima ou concentração fungicida mínima, também conhecida como concentração letal mínima, que é uma estimativa da atividade bactericida ou fungicida, definida pela menor concentração de agente antimicrobiano necessário para matar 99,9 % do inóculo final após incubação por 24 horas de incubação (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016).

Diante do exposto, conclui-se que a quitosana é um biopolímero promissor na produção de biomateriais com propriedades biomédicas, a qual apresenta atividade antimicrobiana intrínseca. Além disso, visando um sinergismo para a ação antimicrobiana, a associação de óleos essenciais à quitosana é considerada relevante, uma vez que possuem inúmeras propriedades farmacológicas, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis. Em relação aos métodos utilizados para a análise antimicrobiana, a técnica mais utilizada nos estudos foi a de difusão em ágar, a qual é rotineiramente utilizada nos ensaios microbiológicos em laboratórios clínicos.

**Apoio:** O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- Abdollahzadeh, E., Nematollahi, A., & Hosseini, H. (2021). Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 291-303.
- Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240-254.
- Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K. S., & Lim, S. H. E. (2021). An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. *Molecules*, 26(3), 628.
- Amalraj, A., Haponiuk, J. T., Thomas, S., & Gopi, S. (2020). Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 366-375.
- Ardekani, N. T., Khorram, M., Zomorodian, K., Yazdanpanah, S., Veisi, H., & Veisi, H. (2019). Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with *Zataria multiflora* essential oil as potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 743-750.
- Bakshi, P. S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., & Kumar, N. S. (2020). Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 1072-1083.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Barzegar, S., Zare, M. R., Shojaei, F., Zareshahabadi, Z., Koohi-Hosseinabadi, O., Saharkhiz, M. J., Iraj, A., Zomorodian, K., & Khorram, M. (2021). Core-shell chitosan/PVA-based nanofibrous scaffolds loaded with *Satureja mutica* or *Oliveria decumbens* essential oils as enhanced antimicrobial wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 597, 120288.
- Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806-822.
- Bölgen, N., Demir, D., Yalçın, M. S., & Özdemir, S. (2020). Development of *Hypericum perforatum* oil incorporated antimicrobial and antioxidant chitosan cryogel as a wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1581-1590.
- Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. *Molecules*, 26(12), 3694.
- De Masi, A., Tonazzini, I., Masciullo, C., Mezzena, R., Chiellini, F., Puppi, D., & Cecchini, M. (2019). Chitosan films for regenerative medicine: Fabrication methods and mechanical characterization of nanostructured chitosan films. *Biophysical Reviews*, 11(5), 807-815.
- El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Elwan, H. A. M., Elnesr, S. S., & Abd El-Hack, M. E. (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5145-5156.
- Espíndola Sobczyk, A., Luchese, C. L., Faccin, D. J. L., & Tessaro, I. C. (2021). Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 51-59.
- Foster, L. J. R., & Butt, J. (2011). Chitosan films are NOT antimicrobial. *Biotechnology Letters*, 33(2), 417-421.
- Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S., & Jafari, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*, 236, 116075.
- Indurkar, A., Pandit, A., Jain, R., & Dandekar, P. (2021). Plant-based biomaterials in tissue engineering. *Bioprinting*, 21, e00127.
- Inta, O., Yoksan, R., & Limtrakul, J. (2014). Hydrophobically modified chitosan: A bio-based material for antimicrobial active film. *Materials Science and Engineering: C*, 42, 569-577.
- Jridi, M., Hajji, S., Ayed, H. B., Lassoued, I., Mbarek, A., Kammoun, M., Souissi, N., & Nasri, M. (2014). Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 373-379.

- Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 89-105.
- Jung, E. J., Youn, D. K., Lee, S. H., No, H. K., Ha, J. G., & Prinyawiwatkul, W. (2010). Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(4), 676-682.
- Lamarra, J., Calienni, M. N., Rivero, S., & Pinotti, A. (2020). Electrospun nanofibers of poly (vinyl alcohol) and chitosan-based emulsions functionalized with cabreuva essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 307-318.
- Liu, P., Chen, W., Liu, C., Tian, M., & Liu, P. (2019). A novel poly (vinyl alcohol)/poly (ethylene glycol) scaffold for tissue engineering with a unique bimodal open-celled structure fabricated using supercritical fluid foaming. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12.
- Madni, A., Kousar, R., Naeem, N., & Wahid, F. (2021). Recent advancements in applications of chitosan-based biomaterials for skin tissue engineering. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6(1), 11-25.
- Matica, M. A., Aachmann, F. L., Tøndervik, A., Sletta, H., & Ostafe, V. (2019). Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5889.
- Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Kang, K. H., Je, J. Y., Pham, H. N. D., Byum, H. G. & Kim, S. K. (2015). Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocolloids*, 51, 200-216.
- Orchard, A., Sandasi, M., Kamatou, G., Viljoen, A., & van Vuuren, S. (2017). The in vitro antimicrobial activity and chemometric modelling of 59 commercial essential oils against pathogens of dermatological relevance. *Chemistry & Biodiversity*, 14(1), e1600218.
- Santos, E. P., Nicácio, P. H. M., Coêlho Barbosa, F., Nunes da Silva, H., Andrade, A. L. S., Lia Fook, M. V., Silva, S. M. L., & Farias Leite, I. (2019). Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: Physical and antimicrobial properties. *Materials*, 12(14), 2223.
- Râpă, M., Gaidau, C., Mititelu-Tartau, L., Berechet, M. D., Berbecaru, A. C., Rosca, I., Chiriac, A. P., Matei, E., Predescu, A. M., & Predescu, C. (2021). Bioactive collagen hydrolysate-chitosan/essential oil electrospun nanofibers designed for medical wound dressings. *Pharmaceutics*, 13(11), 1939.
- Ren, Q., Zhu, X., Li, W., Wu, M., Cui, S., Ling, Y., Ma, X., Wang, G. Wang, L., & Zheng, W. (2022). Fabrication of super-hydrophilic and highly open-porous poly (lactic acid) scaffolds using supercritical carbon dioxide foaming. *International Journal of Biological Macromolecules*, 205, 740-748.
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S. (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(3), 365-379.
- Rodríguez-Vázquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zúñiga, R., Saldaña-Koppel, D. A., & Quiñones-Olvera, L. F. (2015). Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. *BioMed Research International*, 2015.
- Rojas-Graü, M. A., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P. R., Martín-Belloso, O., Pan, Z., & McHugh, T. H. (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81(3), 634-641.
- Saad, N. Y., Muller, C. D., & Lobstein, A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5), 269-279.
- Shariatnia, Z. (2019). Pharmaceutical applications of chitosan. *Advances in Colloid and Interface Science*, 263, 131-194.
- Sikorski, D., Bauer, M., Frączyk, J., & Draczyński, Z. (2022). Antibacterial and Antifungal Properties of Modified Chitosan Nonwovens. *Polymers*, 14(9), 1690.
- Sultankulov, B., Berillo, D., Sultankulova, K., Tokay, T., & Saparov, A. (2019). Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomolecules*, 9(9), 470.
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580.



Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1194.

Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130.

**ARTIGO III**

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY *in vitro* OF CHITOSAN EMULSIONS AND FILMS  
CONTAINING ESSENTIAL OILS FOR USE IN CATHETER COVERINGS**

Elaborado conforme as normas na Revista Materials (Basel)

Fator de Impacto: 3.748

Qualis Capes: A3

# Antimicrobial Activity in vitro of Chitosan Emulsions and Films containing Essential Oils for Use in Catheter Coverings

Betina Brixner<sup>1</sup>, Vanessa Caroline Hermes<sup>1</sup>, Giovana Bagnara Luisi<sup>2</sup>, Rafaela Michel Jahnke<sup>1</sup>, Pedro Espindola da Silveira<sup>1</sup>, Thaís Faller Petry<sup>1</sup>, Janice Botelho Souza Hamm<sup>1</sup>, Patrícia Santos Lopes<sup>3</sup>, Chana Medeiros da Silva<sup>1</sup>, Liliane Damaris Pollo<sup>2</sup>, Jane Dagmar Pollo Renner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Brasil

<sup>3</sup> Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Brasil

**Abstract:** Chitosan-based biomaterials containing essential oils are potentially promising in health field, especially concerning antimicrobial activity. This study prepared chitosan solutions and films containing *Citrus reticulata*, *Eugenia caryophyllus*, and *Origanum vulgare* essential oils. The gas chromatography results combined with mass spectroscopy showed that most compounds for the *C. reticulata*, *E. caryophyllus*, and *O. vulgare* essential oils were limonene, eugenol, and carvacrol, respectively. Films produced containing *C. reticulata*, *E. caryophyllus*, and *O. vulgare* presented yellowish, light yellow, and greenish yellow coloration, respectively; good transparency in visible light and malleability. The film containing the oil *C. reticulata* presented dense and homogeneous morphology, similar to the chitosan film. The film containing the oil *E. caryophyllus* presented porous morphology due to the separation of the polymer/oil phases. The film containing the oil *O. vulgare* showed a dense and irregular surface. The Fourier transform infrared spectroscopy analysis showed that there was the presence of the components of *E. caryophyllus* and *O. vulgare* essential oils at a concentration of 2% (v/v). Scanning electron microscopy analysis showed the acceptable interaction of chitosan matrix with oil *C. reticulata* and the excess oil in the films containing *E. caryophyllus* and *O. vulgare*. For filmogenic emulsions, the association with the *C. reticulata* essential oil showed a larger inhibition zone at the concentration of 2 % (v/v), while for the associations with *E. caryophyllus* and *O. vulgare* essential oils, for the concentration of 3 % (v/v). The study observed antimicrobial activity in those films containing essential oil of *E. caryophyllus* 2 % (v/v) and *O. vulgare* 1% to 3 % (v/v), except for *E. coli*, which did not show inhibition halo. However, below the film, there was not the presence of bacterial growth. Given the above, the analysis verified that the studied essential oils have potential in association with chitosan for the production of catheter covers, since the antimicrobial action depends on the type and concentration of the oil used, as well as the contaminating microorganism.

**KEYWORDS:** Antimicrobial Activity; Chitosan; Films; Essential Oil; *Origanum vulgare*; *Eugenia caryophyllus*; *Citrus reticulata*

**Support:** This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

**CAPÍTULO III**  
**CONCLUSÕES GERAIS**

## CONCLUSÕES GERAIS

- O levantamento epidemiológico das ICSRC em pacientes internados na UTI neopediátrica do Hospital Santa Cruz foi realizado no período de 2015-2019. Através deste levantamento foi possível identificar que as ICSRC foram prevalentes em recém-nascidos prematuros (< 34 semanas de gestação), com até 28 dias de vida (neonatais), do sexo masculino e com baixo peso ao nascer. Através da análise foi possível verificar que houve associação entre o baixo peso ao nascer com a prematuridade do bebê. O agente patogênico mais associado às ICSRC foi o *Staphylococcus* coagulase negativa, que apresentou elevada taxa de resistência à oxacilina.

- Os métodos utilizados para os ensaios antimicrobianos para os biomateriais à base de quitosana, com diferentes óleos essenciais incorporados, para aplicabilidade biomédica foram identificados através de uma revisão integrativa da literatura. A técnica mais utilizada nos estudos foi a de difusão em ágar, seguida da concentração inibitória/microbiana mínima; grande parte dos biomateriais com quitosana pura apresentaram atividade antimicrobiana intrínseca frente às cepas testadas; foi possível verificar o sinergismo e melhora da atividade antimicrobiana nos biomateriais após a incorporação dos óleos essenciais.

- Filmes à base de quitosana contendo os óleos essenciais de *C. reticulata*, *E. caryophyllata* e *O. vulgare*, foram desenvolvidos e apresentaram boas características para serem utilizados como coberturas para cateter. Os óleos essenciais foram caracterizados e foi possível identificar os principais compostos dos óleos essenciais, sendo o limoneno, eugenol e carvacrol, respectivamente, os compostos majoritários e responsáveis pela ação antimicrobiana. Os filmes produzidos com a incorporação dos óleos foram parcialmente homogêneos, apresentaram maleabilidade e transparência. Conforme visualização no MEV, os filmes contendo óleo essencial de *E. caryophyllata* e *O. vulgare* apresentaram excesso de óleo incorporado, resultado que também pode ser visto no FTIR, cujo espectro houve aparecimento de picos referentes aos grupamentos químicos presentes nos óleos essenciais. Nas análises microbianas das soluções filmogênicas, verificou-se um efeito sinérgico entre a quitosana e os óleos essenciais testados; os óleos essenciais de *C. reticulata*, *E. caryophyllus* e *O. vulgare* apresentaram atividade antimicrobiana frente às cepas de *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli* e *C. tropicalis*; quando os óleos essenciais foram incorporados à quitosana, a atividade antimicrobiana foi superior ao dos componentes puros; para os filmes, após a incorporação do óleo essencial, foi identificada inibição semelhante e/ou maior para o filme contendo o óleo

essencial de *O. vulgare*, para as cepas de *S. aureus*, de *S. epidermidis* e de *C. tropicalis*; para os filmes que não foram observadas zonas de inibição, foi verificada ausência de crescimento microbiano abaixo dos filmes. Ainda, foi possível avaliar que a citotoxicidade dos filmes não foi relacionada aos óleos essenciais incorporados aos filmes e que, provavelmente, a citotoxicidade dos filmes é relacionada ao plastificante Tween.

- O impacto social da tese reflete na redução das IRAS relacionadas ao uso de cateteres, ou seja, irá atuar diretamente na prevenção de infecções nosocomiais, estando diretamente ligado à segurança dos pacientes hospitalizados.

- O apelo ambiental é outra característica relevante desta tese. O desenvolvimento de um novo material biodegradável, para ser utilizado nos pacientes internados, impactará diretamente na redução dos resíduos de serviços de saúde, um grande problema ambiental e de saúde pública.

- Em termos de impacto econômico, já foi realizado o depósito de uma patente e idealizamos identificar parceiros de indústrias farmacêuticas para que seja feita a transferência de tecnologia de forma a viabilizar a produção da cobertura e posterior comercialização.

**CAPÍTULO IV**  
**NOTA À IMPRENSA**

## COBERTURA ANTIMICROBIANA PARA CATETERES QUE ATUA NA PREVENÇÃO DAS INFECÇÕES HOSPITALARES

As infecções hospitalares, atualmente conhecidas como infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), são consideradas um problema de saúde pública e estão relacionadas a altos índices de complicações clínicas e de mortes de pacientes. A Organização Mundial de Saúde (OMS), estima que a cada 10 pacientes que recebem cuidados em instituições de saúde, um irá contrair algum tipo de infecção. O método mais conhecido para prevenir as IRAS ainda é a lavagem das mãos. Aliado a isso, muitos pesquisadores vêm estudando novas tecnologias e lançando novos materiais para contribuir na redução das IRAS.



Diante deste cenário, uma pesquisa realizada através do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul objetivou estudar a epidemiologia das infecções da corrente sanguínea relacionadas ao uso de cateter e desenvolver uma cobertura antimicrobiana para cateter, à base de quitosana e óleos essenciais, com atividade antibacteriana e antifúngica. A pesquisa é resultado da tese da doutoranda Betina Brixner, sob orientação da Dra. Jane Dagmar Pollo Renner (UNISC), coorientação da Dra. Liliane Damaris Pollo (UFRGS) e a colaboração da Dra. Chana de Medeiros da Silva (UNISC).

Dentre os resultados encontrados, foi possível verificar que o microrganismo mais relacionado com os casos das infecções da corrente sanguínea, em uma unidade de terapia intensiva neopediátrica localizada no interior do Rio Grande do Sul, foi uma bactéria encontrada na pele dos indivíduos saudáveis, que possui importância clínica em decorrência do seu envolvimento com casos de infecções relacionadas ao uso de cateter. Além disso, foi possível desenvolver uma cobertura antimicrobiana totalmente natural, utilizando a quitosana e óleos essenciais, que potencializam a ação frente aos microrganismos. Os autores destacam que essa cobertura antimicrobiana é promissora, uma vez que reflete positivamente frente ao impacto social através da redução das IRAS relacionadas ao uso de cateteres e, no impacto ambiental, por meio da redução do lixo hospitalar gerado pelos serviços de saúde.



**CAPÍTULO IV**  
**RELATÓRIO DE CAMPO**

## **RELATO DE CAMPO**

O presente estudo abrange características interdisciplinares. Na coleta de dados epidemiológicos contamos com o apoio de profissionais farmacêuticos, enfermeiros e graduandos do curso de farmácia. Já, na etapa do desenvolvimento dos biofilmes e de suas análises biológicas e físico-químicas, estavam presentes farmacêuticos, engenheiros químicos e graduandos dos cursos de farmácia, biomedicina, química e engenharia química.

No intuito de alcançar os objetivos propostos no projeto de pesquisa, este estudo foi dividido em duas partes: (1) estudo epidemiológico das infecções em corrente sanguínea em uma UTI neopediátrica e; (2) desenvolvimento e caracterização dos biofilmes produzidos à base de quitosana e óleos essenciais.

### **- ANO DE 2019**

No primeiro ano do doutorado tivemos intensa pesquisa nas bases de dados sobre o tema da tese para a elaboração do projeto e para a escolha das metodologias a serem empregadas posteriormente. Concomitante a essa busca de estudos sobre as diferentes metodologias, ocorreu a primeira etapa da pesquisa no qual foi realizado um estudo transversal e retrospectivo na busca das infecções da corrente sanguínea na UTI neopediátrica do Hospital Santa Cruz, Santa Cruz do Sul, RS. Os dados foram disponibilizados pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e o levantamento ocorreu utilizando o sistema informatizado da instituição (MV 2000®). Nessa primeira etapa, não foram encontradas nenhuma intercorrência durante a coleta dos dados e não foi necessário nenhum ajuste no projeto de pesquisa.

Ainda, no final do segundo semestre de 2019 foram realizadas as compras dos materiais que foram utilizados na pesquisa: polímero quitosana, reagente e os óleos essenciais. Também foi realizada a extração do óleo essencial de bergamota (*C. reticulata*), utilizando a casca do fruto, pelo método de arraste à vapor, o qual apresentou um baixo rendimento. Devido a isso, ficou acordado entre o grupo de pesquisa que, para otimização do tempo e do produto, que os óleos essenciais para a pesquisa seriam adquiridos comercialmente.

### **- ANO 2020**

No início do primeiro semestre de 2020 foram coletados os dados do último ano da Etapa 1 e iniciados os experimentos da Etapa 2. Em um primeiro momento, foram testadas diferentes concentrações de quitosana (1 %, 1,5 %, 1,75 %, 2,0 %, 2,5 % e 3,0 %), a fim de verificar qualitativamente a consistência e espessura dos filmes formados para serem futuramente

empregadas na formulação do bioproduto pretendido. Em virtude da pandemia do COVID-19, os laboratórios de pesquisas foram fechados e os experimentos, programados para serem realizados durante o primeiro semestre de 2021, foram suspensos. O grupo de pesquisa permaneceu realizando reuniões semanais via *Meet*, para discussão de artigos e suas metodologias, bem como dos resultados parciais da pesquisa.

No segundo semestre de 2020, após a abertura dos laboratórios de pesquisa, os experimentos foram continuados. Foram desenvolvidos filmes à base do polímero de quitosana nas concentrações de 1,5 % e 1,75 % (m/m), aos quais foram adicionados e testados diferentes concentrações e substâncias naturais, dentre elas o extrato de própolis verde (comercial – presença de impureza e descontinuado os experimentos), óleo de bergamota (extraído e comercial), óleo de cravo-da-índia (comercial) e óleo de orégano (comercial).

Na próxima etapa do desenvolvimento dos biofilmes, foi escolhida a concentração de quitosana de 1,75 % (m/m), pois apresentou aparência mais uniforme, espessura mais adequada e resistência ao rasgo. Novos lotes dos biofilmes contendo óleos essenciais em diferentes concentrações de óleos (1, 2 e 3 %) foram desenvolvidos. Estes filmes foram avaliados segundo as seguintes análises: características sensoriais e organolépticas (qualitativo), FTIR dos biofilmes e análise por cromatografia gasosa dos óleos essenciais, análises biológicas através dos ensaios da atividade antimicrobiana dos filmes com diferentes concentrações dos óleos essenciais, visando um sinergismo na ação antimicrobiana para os diferentes microrganismos testados.

## **- ANO DE 2021**

Novamente, em virtude da pandemia e do fechamento dos laboratórios, houve atraso dos experimentos. O grupo de pesquisa permaneceu fazendo reuniões semanais via *Meet* para discussão de artigos e dos resultados parciais da pesquisa. Ainda, continuamos com o desenvolvimento dos biofilmes de quitosana 1,75 % (m/m) contendo óleos essenciais de cravo-da-índia, de bergamota e de orégano, ambos na concentração de 2 % (m/m). Seguimos com as análises físico-químicas (cromatografia gasosa dos óleos e FTIR, teste de inchamento, MEV, análise qualitativa e organolépticas, espessura, análise termogravimétrica e capacidade de manuseio de fluido, bem como as análises de atividade antimicrobiana.

Esse ano foi de intensa produção e contatos. Conseguimos parceria com a professora Dra. Patrícia Santos Lopes, da Universidade Federal de São Paulo, para realizar os ensaios de Citotoxicidade, uma vez que o laboratório de cultivo celular do TecnoUnisc estava interditado, sendo utilizado como laboratório de apoio no diagnóstico molecular de COVID-19. Também

conseguimos contato como o professor Mario, do Instituto Federal Catarinense, para realizar ensaios de irritabilidade cutânea. Ainda, esse período foi marcado pela escrita e envio do pedido de patente desse biomaterial desenvolvido, bem como na escrita de projetos a serem enviados nos editais federais e estaduais, o qual tivemos a contemplação no edital do Pesquisador Gaúcho e Universal. Ainda, no mês de dezembro, foi realizado o pedido de depósito de patente intitulada “COBERTURA ANTIMICROBIANA BIODEGRADÁVEL PARA CATETER”, sob número de processo: BR 20 2021 0263402, conforme Anexo C.

#### **- ANO DE 2022**

Durante esse ano as reuniões quinzenais, com os professores, doutoranda e bolsistas de iniciação científica continuaram acontecendo, discutindo artigos e novas técnicas para realizar as análises dos biofilmes desenvolvidos e explanação dos resultados parciais da pesquisa. Novos reagentes foram comprados para dar continuidade aos experimentos, os quais houve atraso nas entregas. Durante esse ano, também tivemos alguns problemas relacionados com a estufa de circulação de ar utilizada para a secagem dos filmes, que durante a sua manutenção, foi utilizada outra estufa, cuja secagem das membranas não foram uniformes.

Antes do envio das amostras aos laboratórios da Universidade Federal de São Paulo, foram realizadas análises preliminares, semelhante ao grau de inchamento com o meio DMEN (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*). Para o ensaio prévio de envio para o teste de irritação cutânea, a ser enviado para o Instituto Federal Catarinense, não tivemos sucesso, pois os biofilmes produzidos deveriam se solubilizar em meio DMEN, o que não ocorreu; com isso não foi possível realizar o ensaio com uma amostra sólida.

Neste ano muitos filmes de quitosana 1,75 % contendo óleos essenciais de bergamota, cravo-da-índia e orégano, ambos a 2 % foram produzidos. Os lotes foram separados, em que a primeira parte foi para a UNISC, onde foram realizadas parte das análises-físico-químicas e biológicas; a segunda parte foi para a UFRGS para finalizar as análises físico-químicas e; a terceira parte foi para a Universidade Federal de São Paulo, onde foi realizado o ensaio de citotoxicidade.

Além desses biofilmes, foram produzidos novos biofilmes com os óleos essenciais incorporados, mudando o método de agitação (de agitação magnética para *mixer*) para avaliar a homogeneidade final da emulsão. Foram testadas diferentes concentrações de óleos essenciais e realizadas as análises físico-químicas e biológicas dos mesmos.

**- ANO DE 2023**

Em março de 2023 tivemos retorno dos resultados da análise de cultivo celular, realizada pela a Professora Patrícia, na Universidade Federal de São Paulo. Também, nesse ano, foi realizada a análise estatística, pelo teste de Tukey, do ensaio antimicrobiano, bem como demais ajustes sugeridos na qualificação desta tese.

O desenvolvimento de um filme com finalidade para ser utilizado como uma cobertura antimicrobiana biodegradável foi desafiador e uma equipe de professores e bolsistas de diferentes áreas se envolveram nessa produção. Aproveito para agradecer as professoras Jane, Liliane, Chana, Janice e todos os bolsistas envolvidos que ajudaram e muito se dedicaram para auxiliar na execução desse projeto. Apesar das dificuldades encontradas, por atraso na entrega de reagente, equipamentos com defeito/estragado e, principalmente, o fechamento dos laboratórios devido à pandemia do COVID-19, foi possível desenvolver filmes contendo três diferentes óleos essenciais, os quais apresentaram características promissoras para serem utilizados como coberturas de cateter. Esse projeto é de suma importância, visando impacto social, ambiental e econômico, o que se comprova com a contemplação de dois editais importantes, a nível nacional e estadual. Ainda tem muito a ser desenvolvido, mas os resultados alcançados com esta tese de doutorado demonstram a potencial aplicação de biomateriais contendo óleos essenciais e abrem novas discussões para estudos futuros.

## REFERÊNCIAS

- ABD EL-HACK, M. E. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 164, p. 2726-2744, 2020.
- AGHDASSI, S. J. S. et al. A national survey on the implementation of key infection prevention and control structures in German hospitals: results from 736 hospitals conducting the WHO Infection Prevention and Control Assessment Framework (IPCAF). *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 8, n. 1, p. 1-8, 2019.
- AHMED, T. A.; ALJAEID, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug design, development and therapy*, v. 10, p. 483, 2016.
- AL-HILIFI, S. A.; AL-ALI, R. M.; PETKOSKA, A. T. Ginger essential oil as an active addition to composite chitosan films: development and characterization. *Gels*, v. 8, n. 6, p. 327, 2022.
- ALECRIM, R. X. et al. Strategies for preventing ventilator-associated pneumonia: an integrative review. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 72, n. 2, p. 521-530, 2019.
- ALFOUZAN, W. et al. Epidemiology and microbiological profile of common healthcare associated infections among patients in the intensive care unit of a general hospital in Kuwait: A retrospective observational study. *Journal of Epidemiology and Global Health*, v. 11, n. 3, p. 302, 2021.
- ALI, M. et al. Hospital waste management in developing countries: a mini review. *Waste Management & Research*, v. 35, n. 6, p. 581-592, 2017.
- ALP, E. et al. Infection control bundles in intensive care: an international cross-sectional survey in low-and middle-income countries. *Journal of Hospital Infection*, v. 101, n. 3, p. 248-256, 2019.
- ALVEN, S. et al. Polymer-based wound dressing materials loaded with bioactive agents: potential materials for the treatment of diabetic wounds. *Polymers*, v. 14, n. 4, p. 724, 2022.
- AMALRAJ, A. et al. Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 151, p. 366-375, 2020.
- AMBROSIO, C. M. S. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant activity of a *Citrus* essential oil and its fractions. *Molecules*, v. 26, n. 10, p. 2888, 2021.
- ANTUNES, J. C. et al. Eugenol-containing essential oils loaded onto chitosan/polyvinyl alcohol blended films and their ability to eradicate *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa* from infected microenvironments. *Pharmaceutics*, v. 13, n. 2, p. 195, 2021.
- ARANAZ, I. et al. Chitosan: an overview of its properties and applications. *Polymers*, v. 13, n. 19, p. 3256, 2021.

ARAÚJO, D. L. et al. Analysis of the antimicrobial activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare*): a review study on the main effects on pathogens. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 2, p. e36810212584-e36810212584, 2021.

ARDEAN, C. et al. Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 14, p. 7449, 2021.

ARENA, M. E.; ALBERTO, M. R.; CARTAGENA, E. Potential use of *Citrus* essential oils against acute respiratory syndrome caused by coronavirus. *Journal of Essential Oil Research*, v. 33, n. 4, p. 330-341, 2021..

ASSEFA, Muluneh. Multi-drug resistant gram-negative bacterial pneumonia: etiology, risk factors, and drug resistance patterns. *Pneumonia*, v. 14, n. 1, p. 1-12, 2022.

BADIA-CEBADA, L. et al. Trends in the epidemiology of catheter-related bloodstream infections; towards a paradigm shift, Spain, 2007 to 2019. *Eurosurveillance*, v. 27, n. 19, p. 2100610, 2022.

BAJ, T. et al. Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare* L., *Satureja hortensis* L., *Thymus serpyllum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Open Chemistry*, v. 18, n. 1, p. 108-118, 2020.

BAKSHI, P. S. et al. Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 150, p. 1072-1083, 2020.

BARBOSA, L. N. et al. Proteomic analysis and antibacterial resistance mechanisms of *Salmonella* Enteritidis submitted to the inhibitory effect of *Origanum vulgare* essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Proteomics*, v. 214, p. 103625, 2020.

BEHBAHANI, B. A.; NOSHAD, M.; FALAH, F. Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, v. 13, p. 875–883, 2019.

BELL, T.; O'GRADY, N. P. Prevention of central line-associated bloodstream infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 31, n. 3, p. 551-559, 2017.

BELKAID, Y.; HARRISON, O. J. Homeostatic immunity and the microbiota. *Immunity*, v. 46, n. 4, p. 562-576, 2017.

BIDA, M. R. et al. Essential oil compounds from the leaf of *Eugenia samanensis* Alain (Myrtaceae), a species endemic to the Samaná Peninsula, Dominican Republic. *Journal of Essential Oil Research*, v. 31, n. 2, p. 154-159, 2019.

BIERLAIRE, S. et al. How to minimize central line-associated bloodstream infections in a neonatal intensive care unit: a quality improvement intervention based on a retrospective analysis and the adoption of an evidence-based bundle. *European Journal of Pediatrics*, v. 180, n. 2, p. 449-460, 2021.

- BORA, L. et al. An up-to-date review regarding cutaneous benefits of *Origanum vulgare* L. essential oil. *Antibiotics*, v. 11, n. 5, p. 549, 2022.
- BOYCE, J. M. et al. Impact of an automated hand hygiene monitoring system and additional promotional activities on hand hygiene performance rates and healthcare-associated infections. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 20, n. 7, p. 1-7, 2019.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Medidas de Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde*. Brasília: Anvisa, 2017.
- BRIXNER, B. et al. Microbiologia. In: \_\_\_\_\_. *Protocolos e técnicas laboratoriais de rotina: aplicações em biologia molecular, microbiologia, cultivo celular e farmacognosia*. 1. ed. Porto Alegre: Tikinet, 2019. p. 131-174
- BROUDIC, M. et al. A 1-year survey of catheter-related infections in a pediatric university hospital: A prospective study. *Archives de Pédiatrie*, v. 27, n. 2, p. 79-86, 2020.
- BUETTI, N.; TIMSIT, J. F. Management and Prevention of Central Venous Catheter-Related Infections in the ICU. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, v. 40, n. 4, p. 508-523, 2019.
- BUNGAU, S. et al. Aspects of excessive antibiotic consumption and environmental influences correlated with the occurrence of resistance to antimicrobial agents. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, v. 19, p. 100224, 2021.
- CHAKRABORTY, M. et al. Mechanism of plant growth promotion and disease suppression by chitosan biopolymer. *Agriculture*, v. 10, n. 12, p. 624, 2020.
- CHEN, F. et al. Unusual effects of monocarboxylic acids on the structure and on the transport and mechanical properties of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, v. 132, p. 419-429, 2015.
- CONFEDERAT, L. G. et al. Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. *Molecules*, v. 26, n. 12, p. 3694, 2021.
- CORLEY, A. et al. Peripheral intravenous catheter securement: An integrative review of contemporary literature around medical adhesive tapes and supplementary securement products. *Journal of Clinical Nursing*, 2022.
- DADI, N. C. T. et al. Impact of healthcare-associated infections connected to medical devices - an update. *Microorganisms*, v. 9, n. 11, p. 2332, 2021.
- DAHIRU, N.; PALIWAL, R. Phytochemical analysis and antimicrobial properties of *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae). *Journal of Environmental Bioremediation and Toxicology*, v. 4, n. 1, p. 4-7, 2021.
- DE LUCA, I. et al. Nanotechnology development for formulating essential oils in wound dressing materials to promote the wound-healing process: A review. *Applied Sciences*, v. 11, n. 4, p. 1713, 2021.



DE OLIVEIRA FILHO, J. G. et al. Chitosan film with *Citrus limonia* essential oil: physical and morphological properties and antibacterial activity. *Colloids and Interfaces*, v. 4, n. 2, p. 18, 2020.

DENKOVA-KOSTOVA, R. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 76, n. 5-6, p. 175-185, 2021.

DHILLON, G. S. et al. Recent development in applications of importante biopolymer chitosan in biomedicine, pharmaceuticals and personal care products. *Current Tissue Engineering*, v. 2, n. 1, p. 20-40, 2013.

DOSOKY, N. S.; SETZER, W. N. Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 7, p. 1966, 2018.

EGERT, M.; SIMMERING, R. The Microbiota of the Human Skin. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 902, p. 61-81, 2016.

EGERT, M.; SIMMERING, R.; RIEDEL, C. U. The association of the skin microbiota with health, immunity, and disease. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 102, n. 1, p. 62-69, 2017.

EGGIMANN, P. et al. Sustained reduction of catheter associated bloodstream infections with enhancement of catheter bundle by chlorhexidine dressings. *The Lancet*, v. 45, n. 6, p. 823-833, 2018.

ELNASSER, Z.; OBEIDAT, H.; AMARIN, Z. Device-related infections in a pediatric intensive care unit: The Jordan University of Science and Technology experience. *Medicine (Baltimore)*, v. 100, n. 43, p. e27651, 2021.

ESPÍNDOLA SOBCZYK, A. et al. Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings *properties*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 181, p. 51-59, 2021.

FAKIH, M. G. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, central-line-associated bloodstream infection (CLABSI), and catheter-associated urinary tract infection (CAUTI): The urgent need to refocus on hardwiring prevention efforts. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 43, n. 1, p. 26-31, 2022.

FENG, P. et al. Chitosan-based functional materials for skin wound repair: mechanisms and applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 9, p. 650598, 2021.

FOSTER, L. John R.; BUTT, Julian. Chitosan films are NOT antimicrobial. *Biotechnology Letters*, v. 33, n. 2, p. 417-421, 2011.

GHOMI, E. R. et al. Wound dressings: Current advances and future directions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 136, n. 27, p. 47738, 2019.

- GILARDI, E. et al. Reduction of bacterial colonization at the exit site of peripherally inserted central catheters: a comparison between chlorhexidine-releasing sponge dressings and cyanoacrylate. *The Journal of Vascular Access*, v. 22, n. 4, p. 597-601, 2021.
- GONZÁLEZ-MAS, M. C. et al. Volatile compounds in *Citrus* essential oils: a comprehensive review. *Frontiers in plant science*, v. 10, p. 12, 2019.
- GOYAL, A. et al. Bioactive-based cosmeceuticals: an update on emerging trends. *Molecules*, v. 27, n. 3, p. 828, 2022.
- GOW, N. A. R.; YADAV, B. Microbe Profile: *Candida albicans*: a shape-changing, opportunistic pathogenic fungus of humans. *Microbiology*, v. 163, n. 8, p. 1145-1147, 2017.
- GRAVANTE, F. et al. Dressings and securement devices of peripheral arterial catheters in intensive care units and operating theaters: a systematic review. *Dimensions of Critical Care Nursing*, v. 39, n. 5, p. 242-250, 2020.
- GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, v. 18, n. 5, p. 310–321, 2016.
- GÜNEŞ, S.; TIHMINLIOĞLU, F. *Hypericum perforatum* incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 102, p. 933-943, 2017.
- HAJIMEHDIPOOR, H. et al. A validated high performance liquid chromatography method for the analysis of thymol and carvacrol in *Thymus vulgaris* L. volatile oil. *Pharmacognosy Magazine*, v. 6, n. 23, p. 154, 2010.
- HAMEDI, H. et al. Chitosan based bioadhesives for biomedical applications: A review. *Carbohydrate Polymers*, p. 119100, 2022.
- HARO-GONZÁLEZ, J. N. et al. Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, v. 26, n. 21, p. 6387, 2021.
- HAUGHEY, B. S.; WHITE, S. C.; SECKELER, M. D. Catheter-associated bloodstream infection incidence and outcomes in congenital cardiac surgery. *Congenital Heart Disease*, v. 14, n. 5, p. 811-813, 2019.
- HEIMANN, S. M. et al. Chlorhexidine-containing dressings in the prevention of central venous catheter-related bloodstream infections: a cost and resource utilization analysis. *American Journal of Infection Control*, v. 46, n. 9, p. 992-997, 2018.
- HONG, L. et al. Functional nanomaterials and their potential applications in antibacterial therapy. *Pharmaceutical Nanotechnology*, v. 7, n. 2, p. 129-146, 2019.
- ILYAS, R. A. et al. Quitosana reforçada com fibra natural, misturas de quitosana e seus nanocompósitos para várias aplicações avançadas. *Polymers*, v. 14, n. 5, pág. 874, 2022.

- INTA, O.; YOKSAN, R.; LIMTRAKUL, J. Hydrophobically modified chitosan: A bio-based material for antimicrobial active film. *Materials Science and Engineering: C*, v. 42, p. 569-577, 2014.
- IZADI, N. et al. Rate of the incidence of hospital-acquired infections in Iran based on the data of the national nosocomial infections surveillance. *New Microbes and New Infections*, v. 38, p. 100768, 2020.
- JEUKENS, J. et al. Genomics of antibiotic-resistance prediction in *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1435, n. 1, p. 5-17, 2019.
- JI, M. et al. Advances in chitosan-based wound dressings: modifications, fabrications, applications and prospects. *Carbohydrate Polymers*, p. 120058, 2022.
- JIA, H. et al. Impact of healthcare-associated infections on length of stay: a study in 68 hospitals in China. *BioMed Research International*, v. 2019, p. 2590563, 2019.
- JIANG, Z. Q. et al. Epidemiological risk factors for nosocomial bloodstream infections: a four-year retrospective study in China. *Journal of Critical Care*, v. 52, p. 92-96, 2019.
- JOHNSON, T. R. et al. The cutaneous microbiome and wounds: new molecular targets to promote wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 9, p. 2699, 2018.
- KE, C. L. et al. Antimicrobial actions and applications of chitosan. *Polymers*, v. 13, n. 6, p. 904, 2021.
- KHAN, F. et al. Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 185, p. 110627, 2020.
- KHODABAKHSHI, D. et al. In vitro and in vivo performance of a propolis-coated polyurethane wound dressing with high porosity and antibacterial efficacy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 178, p. 177-184, 2019.
- KILPATRICK, C. et al. Hand hygiene: sounds easy, but not when it comes to implementation. *Journal of Infection and Public Health*, v. 12, n. 3, p. 301-303, 2019.
- KOLLEF, M. H. et al. Nosocomial Infection. *Critical Care Medicine Journal*, v. 49, n. 2, p. 169-187, 2021.
- KRITIKOU, G. et al. Effectiveness of a preventive bundle of measures for reducing surgical site infections in patients undergoing elective orthopedic procedures in a Hellenic Air Force Hospital. *Giornale di Chirurgia*, v. 40, n. 2, p. 120-126, 2019.
- KUBES, J. N.; FRIDKIN, S. K. Factors affecting the geographic variability of antibiotic-resistant healthcare-associated infections in the United States using the CDC Antibiotic Resistance Patient Safety Atlas. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 40, n. 5, p. 597-599, 2019.

LAMARRA, J. et al. Biomaterial-based dressings as vehicle for chitosan-encapsulated cabreuva essential oil: cytotoxicity and regenerative activity. *Reactive and Functional Polymers*, v. 156, p. 104728, 2020.

LAU, J. S. Y. et al. Surveillance of life-long antibiotics: a review of antibiotic prescribing practices in an Australian healthcare network. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 16, n. 3, 2017.

LEE, J. H. et al. Prevalence and predictors of peripherally inserted central catheter-associated bloodstream infections in adults: a multicenter cohort study. *PLoS One*, v. 14, n. 3, p. e0213555, 2019.

LEVINSON, Warren. Cocos Gram-positivos. In:\_\_\_\_\_. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010a. p. 113-125.

LEVINSON, Warren. Micoses oportunistas. In:\_\_\_\_\_. *Microbiologia Médica e Imunologia*. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010b. p. 351-354.

LIU, J. Y.; DICKTER, J. K. Nosocomial Infections: A History of Hospital-Acquired Infections. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, v. 30, n.4, p. 637-652, 2020.

LOMBREA, A. et al. A recent insight regarding the phytochemistry and bioactivity of *Origanum vulgare* L. essential oil. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 24, p. 9653, 2020.

LOU, W. et al. Antimicrobial polymers as therapeutics for treatment of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* lung infection. *Acta Biomaterialia*, v. 78, p. 78-88, 2018.

LU, M. et al. Bactericidal property of oregano oil against multidrug-resistant clinical isolates. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, p. 2329, 2018.

LUNJANI, N.; HLELA, C.; O'MAHONY, L. Microbiome and skin biology. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, v. 19, n. 4, p. 328-333, 2019.

MADNI, A. et al. Recent advancements in applications of chitosan-based biomaterials for skin tissue engineering. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, v. 6, n. 1, p. 11-25, 2021.

MANDAL, S.; MANDAL, M. Tangerine (*Citrus reticulata* L. var.) oils. In: Essential oils in food preservation, flavor and safety. *Academic Press*, p. 803-811, 2016.

MANOUKIAN, S. et al. Bed-days and costs associated with the inpatient burden of healthcare-associated infection in the UK. *Journal of Hospital Infection*, v. 114, p. 43-50, 2021.

MANZO, B. F. et al. Knowledge and Practices for Central Line Infection Prevention Among Brazilian Nurses: A Mixed-Methods Study. *Advances in Neonatal Care*, v. 22, n. 2, p. 180-187, 2022.

MANZOOR, J.; SHARMA, M. Impact of biomedical waste on environment and human health. *Environmental Claims Journal*, v. 31, n. 4, p. 311-334, 2019.

MARCANO, A. et al. Melhor desempenho de barreira à água e ao oxigênio de membranas flexíveis de poliuretano para aplicação biomédica. *Journal of Biomedical Materials Research Parte A*, V. 110, n. 1, p. 105-121, 2022.

MARTÍNEZ, K. et al. The effect of edible chitosan coatings incorporated with *Thymus capitatus* essential oil on the shelf-life of strawberry (*Fragaria x ananassa*) during cold storage. *Biomolecules*, v. 8, n. 4, p. 155, 2018.

MASSARELLI, E. et al. Polyvinyl alcohol/chitosan wound dressings loaded with antiseptics. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 593, p. 120110, 2021.

MATICA, M. A. et al. Chitosan as a wound dressing starting material: antimicrobial properties and mode of action. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 23, p. 5889, 2019.

MATOS, E. C. O. et al. Mortality in patients with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections: a meta-analysis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 51, p. 415-420, 2018.

MCALEARNEY, A. S. et al. Identificando práticas de gestão para promover a prevenção de infecções: Perspectivas sobre comunicação estratégica. *American Journal of Infection Control*, v. 50, n. 6, p. 593-597, 2022.

McCOY, K. D.; BURKHARD, R.; GEUKING, M. B. The microbiome and immune memory formation. *Immunology & Cell Biology*, v. 97, n. 7, p. 625-635, 2019.

MOEINI, A. et al. Wound healing and antimicrobial effect of active secondary metabolites in chitosan-based wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 233, p. 115839, 2020.

MONDAL, A. et al. Carvacrol (*Origanum vulgare*): Therapeutic properties and molecular mechanisms. In: *Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications*. Springer, p. 437-462, 2021.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Staphylococcus* e outros cocos Gram-positivos relacionados. In: \_\_\_\_\_. *Microbiologia Médica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017a. p. 170-182.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Micoses oportunistas. In: \_\_\_\_\_. *Microbiologia Médica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017b. p. 643-667.

NAGLIK, J. R. et al. *Candida albicans*-epithelial interactions and induction of mucosal innate immunity. *Current Opinion in Microbiology*, v. 40, p. 104-112, 2017.

OLIVEIRA, A. C. S. D. et al. Essential oils from different *Citrus* species and evaluation of their in vitro antibacterial, antiacetylcholinesterase, anti-inflammatory and antifungal activities. *Australian Journal of Crop Science*, v. 16, n. 01, p. 86-92, 2022.

OLIVEIRA, D. M. S. et al. High rates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation in a Brazilian Intensive Care Unit. *Intensive and Critical Care Nursing*, v. 49, p. 51-57, 2018.

OSME, S. F. et al. Financial impact of healthcare-associated infections on intensive care units estimated for fifty Brazilian university hospitals affiliated to the unified health system. *Journal of Hospital Infection*, v. 117, p. 96-102, 2021.

PACHORI, P.; GOTHALWAL, R.; GANDHI. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & Diseases*, v. 6, n. 2, p. 109-119, 2019.

PERS-RS. Plano Estadual de Resíduos Sólidos do Rio Grande do Sul 2015-2034. Governo do Estado do Rio Grande do Sul, 2014.

PINELLI, F. et al. Infection of totally implantable venous access devices: a review of the literature. *The Journal of Vascular Access*, v. 19, n. 3, p. 230-242, 2018.

POMBO, J. C. P. et al. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

PUIG-ASENSIO, M. et al. Effectiveness of chlorhexidine dressings to prevent catheter-related bloodstream infections. Does one size fit all? A systematic literature review and meta-analysis. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, v. 41, n. 12, p. 1388-1395, 2020.

QUIRINO, A. et al. *Citrus bergamia*: kinetics of antimicrobial activity on clinical isolates. *Antibiotics*, v. 11, n. 3, p. 361, 2022.

RAY-BARRUEL, G. et al. Effectiveness of insertion and maintenance bundles in preventing peripheral intravenous catheter-related complications and bloodstream infection in hospital patients: a systematic review. *Infection, Disease & Health*, v. 24, n. 3, p. 152-168, 2019.

REISNER, A. et al. Type 1 fimbriae contribute to catheter-associated urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, v. 196, n. 5, p. 931-939, 2014.

RIAZ RAJOKA, M. S. et al. Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 40, n. 3, p. 365-379, 2020.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Best practices for disinfection of noncritical environmental surfaces and equipment in health care facilities: a bundle approach. *American Journal of Infection Control*, v. 47, p. A96-A105, 2019.

SALZO, A. et al. Healthcare-Associated infections and antibiotics consumption: A comparison of point prevalence studies and intervention strategies. *Hospital Topics*, v. 99, n. 3, p. 140-150, 2021.

SANTOS, E. P. et al. Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: physical and antimicrobial properties. *Materials (Basel)*, v. 12, n. 14, p. 2-21, 2019.

SEBAALY, C. et al. Chitosan-coating effect on the characteristics of liposomes: a focus on bioactive compounds and essential oils: A review. *Processes*, v. 9, n. 3, p. 445, 2021.

- SHAHBAZI, Yasser. Antioxidant, antibacterial, and antifungal properties of nanoemulsion of clove essential oil. *Nanomedicine Research Journal*, v. 4, n. 4, p. 204-208, 2019.
- SHAMELI, K.; SAIFUL, S. A.; YUSEFI, M. Cross-linked Chitosan-Based Hydrogels Nanocomposites for Treatment of Disease. *Journal of Research in Nanoscience and Nanotechnology*, v. 5, n. 1, p. 65-97, 2022.
- SHI, J. et al. Multidrug resistant and extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii* hospital infection associated with high mortality: a retrospective study in the pediatric intensive care unit. *BMC Infectious Diseases*, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2020.
- SILVA, A. G. R. S. et al. Central line-associated bloodstream infection trend in Brazilian adult intensive care units: an ecological study. *The Journal of Infection in Developing Countries*, v. 15, n. 11, p. 1744-1749, 2021.
- SILVA, E. et al. Prevalence and outcomes of infections in Brazilian ICUs: a subanalysis of EPIC II study. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v. 24, n. 2, p. 143-150, 2012.
- SILVA, F. S. et al. What are the risk factors and agents responsible for bacterial infections in ICUs? *O Mundo da Saúde*, v. 42, n. 1, p. 61-76, 2018.
- SINGH, B. et al. Insights into the chemical composition and bioactivities of citrus peel essential oils. *Food Research International*, v. 143, p. 110231, 2021.
- SKOUFOGIANNI, E.; SOLOMOU, A. D.; DANALATOS, N. G. Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 47, n. 3, p. 545-552, 2019.
- SOBCZYK, A. E. et al. Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 181, p. 51-59, 2021.
- SOLTANI, S. et al. A Review of the phytochemistry and antimicrobial properties of *Origanum vulgare* L. and subspecies. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, v. 20, n. 2, p. 268, 2021.
- SONG, X. et al. Antibacterial effects and mechanism of mandarin (*Citrus reticulata* L.) essential oil against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, v. 25, n. 21, p. 4956, 2020.
- SULTANKULOV, B. et al. Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomolecules*, v. 9, n. 9, p. 470, 2019.
- STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. *Chemistry & biodiversity*, v. 8, n. 1, p. 73-94, 2011.
- SURAPAT, B. et al. Microbial epidemiology and risk factors for relapse in gram-negative bacteria catheter-related bloodstream infection with a pilot prospective study in patients with catheter removal receiving short-duration of antibiotic therapy. *BMC Infectious Diseases*, v. 20, n. 1, p. 1-12, 2020.

- TAO N.; JIA L.; ZHOU H. Anti-fungal activity of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, v. 153, p. 265-271, 2014.
- TOFAS, P. et al. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in patients with hematologic malignancies: risk factors, treatment and outcome. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 88, n. 4, p. 335-341, 2017.
- UEHARA, S. C. S. A.; VEIGA, T. B.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Gerenciamento de resíduos de serviços de saúde em hospitais de Ribeirão Preto (SP), Brasil. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 24, n. 1, p. 121-130, 2019.
- ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and prospects for the application of eugenol—A review. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 7, p. 3671, 2021.
- ULLMAN, A. J.; COOKE, M.; RICKARD, C. M. Examining the role of securement and dressing products to prevent central venous access device failure: a narrative review. *Journal of the Association for Vascular Access*, v. 20, n. 2, p. 99-110, 2015.
- UNALAN, I. et al. Evaluation of electrospun poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/gelatin nanofiber mats containing clove essential oil for antibacterial wound dressing. *Pharmaceutics*, v. 11, n. 11, p. 570, 2019.
- VAHEDI, G. et al. Fungicidal effect of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida glabrata* and its cytotoxicity against macrophages. *Journal of HerbMed Pharmacology*, v. 5, n. 2, p. 78-84, 2016.
- VALLE, A. R. M. C. et al. Infection prevention and control in households: nursing challenges and implications. *Acta Paulista de Enfermagem*, v. 29, n. 2, p. 239-244, 2016.
- VALUSSI, Marco et al. Bergamot oil: Botany, production, pharmacology. *Encyclopedia*, v. 1, n. 1, p. 152-176, 2021.
- VAN ROSSE, F. et al. Language barriers and patient safety risks in hospital care. A mixed methods study. *International Journal of Nursing Studies*, v. 54, p. 45-53, 2016.
- VELOSO, D. J. et al. Potential antibacterial and anti-halitosis activity of medicinal plants against oral bacteria. *Archives of Oral Biology*, v. 110, p. 104585, 2020.
- VICENTE-SÁNCHEZ, G. et al. Effect of the implementation of a surgical care bundle in the incidence of surgical site infection in spine surgery: a quasi-experimental study. *Spine*, v. 47, n. 8, p. 615-623, 2022.
- VINCENT, J. L. et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Journal of the American Medical Association*, v. 302, n. 21, p. 2323-2329, 2009.
- VINCIGUERRA, V. et al. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* essential oils and carvacrol against *Malassezia furfur*. *Natural Product Research*, v. 33, n. 22, p. 3273-3277, 2019.



VITALI, I. et al. Effectiveness of a ventilator-associated pneumonia prevention bundle in critically ill children. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, v. 33, n. 2, p. 643-647, 2019.

WANG, W. et al. Effects of incorporation with clove (*Eugenia caryophyllata*) essential oil (CEO) on overall performance of chitosan as active coating. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 166, p. 578-586, 2021.

WANG, X. et al. Antibacterial porous sponge fabricated with capric acid-grafted chitosan and oxidized dextran as a novel hemostatic dressing. *Carbohydrate Polymers*, v. 277, p. 118782, 2022.

WANG, X. et al. Chitosan-metal complexes as antimicrobial agent: synthesis, characterization and structure-activity study. *Polymer Bulletin*, v. 55, n. 1, p. 105-113, 2005.

WEBSTER, J. et al. Gauze and tape and transparent polyurethane dressings for central venous catheters. *Cochrane Database System Review*, v. 11, p. 1-35, 2011.

WEI, L. et al. Chlorhexidine-impregnated dressing for the prophylaxis of central venous catheter-related complications: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, v. 19, n. 1, p. 429, 2019.

WHO. World Health Organization. *Global patient safety action plan 2021–2030: towards eliminating avoidable harm in health care*. Genova, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/teams/integrated-health-services/patient-safety/policy/global-patient-safety-action-plan>>. Acesso em: 15 jun. 2022.

WHO. World Health Organization. *Planning for the Global Patient Safety Challenge - Medication Safety*. Genova, 2016. Disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254990/WHO-HIS-SDS-2016.20-eng.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 06 jun. 2022.

WILLIAMS, M. R.; NAKATSUJI, T.; GALLO, R. L. *Staphylococcus aureus*: master manipulator of the skin. *Cell Host & Microbe*, v. 22, n. 5, p. 579-581, 2017.

WIKIPEDIA (a). *Limonene*. Disponível em: <<https://en.wikipedia.org/wiki/Limonene>>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WIKIPEDIA (b). *Linalol*. Disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/Linalol>>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WIKIPEDIA (c). *Eugenol*. Disponível em: <<https://en.wikipedia.org/wiki/Eugenol>>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WIKIPEDIA (d). *Caryophyllene*. Disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/Caryophyllene>>. Acesso em: 06 nov. 2022.

WU, C. et al. Investigation and analysis of the Status Quo of prevention and control practices of Catheter-Line Associated Bloodstream Infections (CLABSI) in Guangxi, China. *Advances in Infectious Diseases*, v. 11, n. 4, p. 333-343, 2021.

XU et al. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, v. 21, p. 1194, 2016.

YABALAK, E.; ERDOĞAN ELIUZ, E. A.; NAZLI, M. D. Evaluation of *Citrus reticulata* essential oil: chemical composition and antibacterial effectiveness incorporated gelatin on *E. coli* and *S. aureus*. *International Journal of Environmental Health Research*, v. 32, n. 6, p. 1261-1270, 2022.

YUE, D. M. et al. Hospital-wide comparison of health care-associated infection among 8 intensive care units: a retrospective analysis for 2010-2015. *American Journal of Infection Control*, v. 45, n. 1, p. 7-13, 2017.

ZAMBOULIS, A. et al. Chitosan and its derivatives for ocular delivery formulations: recent advances and developments. *Polymers*, v. 12, n. 7, p. 1519, 2020.

ZAMPARAS, M. et al. Medical waste management and environmental assessment in the Rio University Hospital, Western Greece. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 13, p. 100163, 2019.

ZENG, Cui et al. Multi-center prospective study on central line-associated bloodstream infections in 79 ICUs of China. *BMC Infectious Diseases*, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2021.

ZHANG, M. et al. High-mechanical strength carboxymethyl chitosan-based hydrogel film for antibacterial wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, v. 256, p. 117590, 2021.

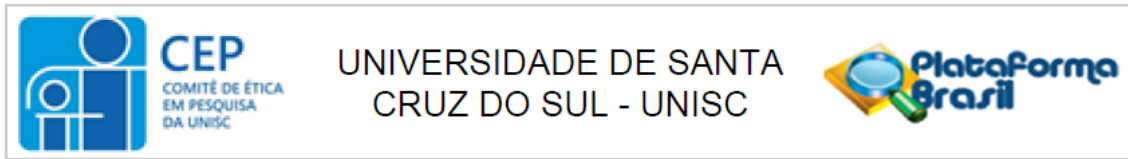
ZHANG, S. et al. Application status and technical analysis of chitosan-based medical dressings: A review. *RSC advances*, v. 10, n. 56, p. 34308-34322, 2020.

ZHOU, M. et al. Bundles of care for prevention of ventilator-associated pneumonia caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in the ICU. *American Journal of Translational Research*, v. 13, n. 4, p. 3561, 2021.

ZIPURSKY, A. R. et al. Central line-associated blood stream infections and non-central line-associated blood stream infections surveillance in Canadian tertiary care neonatal intensive care units. *The Journal of Pediatrics*, v. 3476, n. 18, p. 31728-31731, 2019.

## **ANEXOS**

## ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS MOLECULARES NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS INFECCIOSAS E DE GENES ENVOLVIDOS NA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

**Pesquisador:** JANE DAGMAR POLLO RENNER

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 55494716.3.0000.5343

**Instituição Proponente:** Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

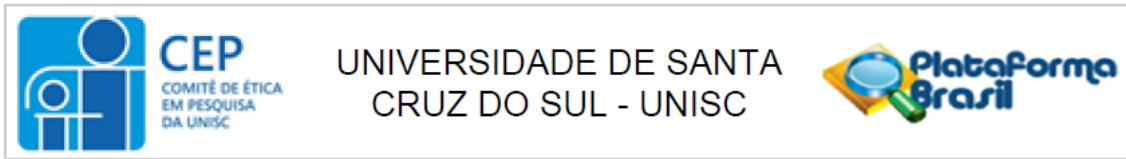
**Número do Parecer:** 1.540.110

#### Apresentação do Projeto:

Atualmente, as Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) são consideradas um dos grandes problemas de saúde pública, com impacto no tempo de internação, na morbimortalidade e gastos com procedimentos terapêuticos e diagnósticos. Acrescenta-se a isso as repercussões para o paciente, sua família e a comunidade em geral, tal como o afastamento do trabalho e da vida social, com consequente comprometimento

psicológico, econômico e social. A infecção ou colonização por microrganismos resistentes em pacientes hospitalizados tem merecido crescente atenção dos serviços de controle de infecção hospitalar. O impacto dessa complicação infecciosa no ambiente hospitalar se traduz por prolongamento da hospitalização, incapacidade para o trabalho, reinternações aumento de custo, sequelas e óbito. Não há estimativas exatas do impacto mundial dessas infecções, mas nos Estados Unidos, mais de 70% das bactérias isoladas nos hospitais são resistentes a pelo menos um antibiótico comumente utilizado no tratamento da infecção. O isolamento bacteriano utilizando técnicas microbiológicas convencionais raramente ultrapassa 25% com sinais clínicos e achados laboratoriais sugestivos de infecção bacteriana invasiva. Também é interessante notar que em 40% das crianças que têm um diagnóstico clínico de sepse e 75% dos casos de neutropenia febril de alto risco, não pode ser detectado os

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 1.540.110

microrganismos por técnicas microbiológicas convencionais. As técnicas moleculares que detectam os ácidos nucleicos para a identificação de patógenos tornaram-se cada vez mais disponíveis. Estas técnicas são sensíveis na detecção do DNA viral, bacteriano e fúngico no sangue periférico. Entre as técnicas moleculares mais promissoras está a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). A mudança de padrões de susceptibilidade antimicrobiana continua a ser uma das tarefas mais importantes de laboratórios de microbiologia clínica. A terapia antimicrobiana

eficaz dos pacientes de doenças infecciosas é constantemente desafiado pelo rápido aumento da prevalência de agentes patogênicos resistentes e até mesmo resistentes a múltiplas drogas em todo o mundo. Em resposta às limitações dos métodos fenotípicos, outros testes de susceptibilidade antimicrobiana e antifúngica são continuamente desenvolvidos. Estes métodos podem identificar um agente patogênico e o seu perfil de

susceptibilidade antimicrobiana dentro de um curto período de tempo. Por exemplo, PCR em tempo real quantitativo (qPCR), que torna possível detectar o microrganismo e a resistência em uma amostra biológica dentro de algumas horas, portanto, isso facilita iniciar o tratamento e controle de medidas adequadas para o paciente. Neste contexto, justifica-se o desenvolvimento de testes de PCR em tempo real (qPCR) para a detecção de microrganismos relevantes e genes de resistência em ambientes hospitalares e em pacientes críticos, e assim, facilitar o tratamento reduzindo o tempo de permanência do paciente no hospital e a melhoria da gestão de antimicrobianos.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

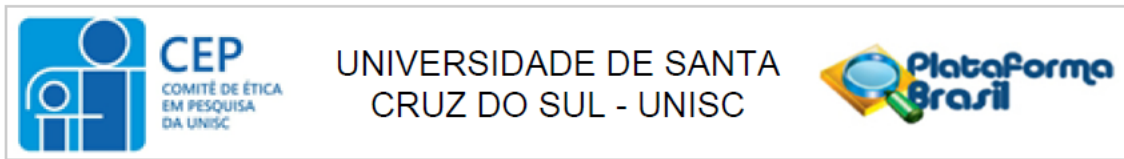
Objetivo Primário:

Desenvolver métodos moleculares no diagnóstico de doenças infecciosas e de genes envolvidos na resistência antimicrobiana.

Objetivo Secundário:

1. Identificar a prevalência de doenças infecciosas e de microrganismos resistentes isolados no ambiente hospitalar e ambulatorial na região de Santa Cruz do Sul;
2. Realizar testes fenotípicos para identificação presuntiva de resistências de microrganismos isolados de amostras biológicas e do ambiente;
3. Padronizar técnicas baseadas em biologia molecular para a identificação em amostras biológicas e isolados de bactérias Gram negativas como Enterobacteriaceae, Pseudomonas sp., Acinetobacter sp. e Gram positivas como

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603  
**Bairro:** Universitário **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 1.540.110

Staphylococcus sp., Streptococcus sp e  
Enterococcus sp.;

4. Padronizar técnicas de identificação de genes de resistências de bactérias Gram negativas (ESBL, AMPc, MBL e KPC) e Gram

positivas (MecA, VanA e VanB)

5. Padronizar técnicas baseadas em biologia molecular para a identificação de isolados de Acanthamoeba spp e

seus genótipos dos ambientes como água e poeira do climatizador de ar hospitalar.

6. Identificar e caracterizar endossimbiontes, como

Legionella spp e Pseudomonas spp, presentes em Acanthamoeba em amostras de água e poeira de ambientes hospitalar;

7. Padronizar técnicas

baseadas em biologia molecular para a identificação de fungos emergentes como Candida albicans e Candida não albicans;

8. Padronizar

técnicas baseadas em biologia molecular para a identificação do CMV

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Não há riscos para os sujeitos da pesquisa, já que serão usadas uma parte das amostras biológicas que serão coletados para exames laboratoriais.

Benefícios:

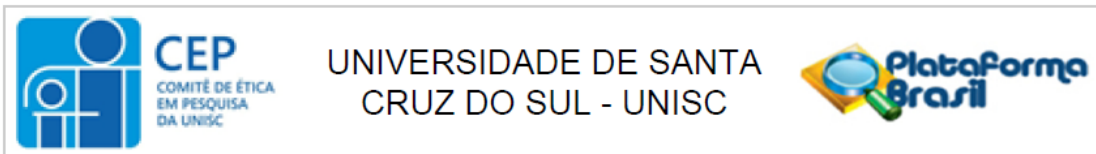
Conhecer a microbiota existente nas mãos e mucosa nasal dos profissionais da saúde; padronizar um método que possibilite o diagnóstico microbiológico (bactérias, fungos e vírus) e sua resistência mais precocemente em pacientes internados, facilitar o tratamento reduzindo o tempo de permanência do paciente no hospital e a melhoria da gestão de antimicrobianos.

#### **Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa de importância ímpar sobre identificação de bactérias, fungos e vírus e que auxiliará a padronizar procedimentos no HSC.

#### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



Continuação do Parecer: 1.540.110

Documentos obrigatórios estão adequados e em conformidade com a solicitação deste CEP.

**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto aprovado e em condições de ser executado.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_697044.pdf	20/04/2016 08:52:32		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	20/04/2016 08:52:03	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	20/04/2016 08:51:32	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	20/04/2016 08:26:59	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	lsc.pdf	12/04/2016 23:48:34	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Aceitehsc.pdf	12/04/2016 23:42:05	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito
Cronograma	orcamento.pdf	12/04/2016 23:35:08	JANE DAGMAR POLLO RENNER	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603  
**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900  
**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL  
**Telefone:** (51)3717-7680 **E-mail:** cep@unisc.br



**CEP**  
COMITÊ DE ÉTICA  
EM PESQUISA  
DA UNISC

UNIVERSIDADE DE SANTA  
CRUZ DO SUL - UNISC



Continuação do Parecer: 1.540.110

SANTA CRUZ DO SUL, 11 de Maio de 2016

---

**Assinado por:**  
**Ingo Paulo Kessler**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Av. Independência, nº 2293 -Bloco 6, sala 603

**Bairro:** Universitario **CEP:** 96.815-900

**UF:** RS **Município:** SANTA CRUZ DO SUL

**Telefone:** (51)3717-7680

**E-mail:** cep@unisc.br



**ANEXO B - Checklist para coleta de dados epidemiológicos**

**PROJETO DE PESQUISA:** Prevalência de infecções de cateter central de inserção periférica em pacientes da uti neopediátrica de um hospital escola.

<b>1. Registro Paciente:</b> n.º		<b>2. Atendimento:</b> n.º	
<b>3. Idade:</b>		<b>4. Nasc.:</b> ____/____/____	
<b>6. Data de internação na UTI:</b> ____/____/____		<b>5. Sexo:</b> (1) Feminino (2) Masculino	
<b>8. Idade Gestacional (Se RN)</b> ____ semanas.		<b>7. Tempo de internação em UTI:</b> _____ dias	
<b>11. Sinais clínicos de infecção da corrente sanguínea:</b> (1) Sim (2) Não		<b>9. Tempo uso do cateter:</b> _____ dias	
<b>12. Comorbidades:</b> (1) Cardíacas (2) Pulmonares (3) Neurológicas (4) Malignidade (5) Endocrinológica (6) Renal Aguda (7) Renal Crônica (8) Hepática (9) Imunodeficiência (10) Prematuridade			
<b>Observação:</b> _____			
<b>13. Peso do bebê:</b>			
<b>14. Uso de ATB antes da coleta da amostra:</b> (1) Sim (2) Não			
<b>15. Hemocultura positiva (1ª amostra):</b> (1) Sim (2) Não ____/____/____		<b>16. Hemocultura positiva (2ª amostra):</b> (1) Sim (2) Não ____/____/____	
<b>17. Microrganismo isolado:</b>			
<b>18. Drogas resistentes:</b>			
<b>19. Drogas sensíveis:</b>			
<b>20. Mecanismo de Resistência:</b> (1) ESBL (2) KPC (3) NDM (4) MBL (5) MRSA (6) VRE			

**ANEXO C – Comprovante do protocolo de pedido de patente**

23/12/2021 870210120274  
17:13  
  
29409161943667119

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo:** BR 20 2021 026340 2**Dados do Depositante (71)**

---

Depositante 1 de 2

**Nome ou Razão Social:** ASSOCIAÇÃO PRÓ-ENSINO EM SANTA CRUZ DO SUL**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 95438412000114**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Associação com intuito não econômico**Endereço:** Avenida Independência, 2293**Cidade:** Santa Cruz do Sul**Estado:** RS**CEP:** 96815-900**País:** Brasil**Telefone:** 51 37177516**Fax:****Email:** nitt@unisc.br

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 23/12/2021 às 17:13, Petição 870210120274

Depositante 2 de 2

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 92969856000198

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Av. Paulo Gama, 110

**Cidade:** Porto Alegre

**Estado:** RS

**CEP:** 90040-060

**País:** BRASIL

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

#### Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 20 - Modelo de Utilidade (MU)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** COBERTURA ANTIMICROBIANA BIODEGRADÁVEL PARA CATETERES

**Resumo:** A invenção direciona-se aos cuidados dedicados à saúde humana, destinada em especial à indústria farmacêutica no desenvolvimento de coberturas para cateteres. Trata-se de uma membrana biodegradável, de origem natural, que associa propriedades de biodegradabilidade e antimicrobianas ao seu uso ou aplicação, resultando em baixo impacto ambiental. As atividades antimicrobianas são possíveis através do uso de óleos essenciais associados à membrana.

**Figura a publicar:** 1

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 23/12/2021 às 17:13, Petição 870210120274

**Dados do Inventor (72)**

---

## Inventor 1 de 5

**Nome:** CHANA DE MEDEIROS DA SILVA**CPF:** 93889224091**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** Avenida Léo Kraether, n. 155**Cidade:** Santa Cruz do Sul**Estado:** RS**CEP:** 96824-400**País:** BRASIL**Telefone:****Fax:****Email:**

## Inventor 2 de 5

**Nome:** BETINA BRIXNER**CPF:** 01848285035**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Estudante de Pós Graduação**Endereço:** Rua Piauí, n. 187**Cidade:** Santa Cruz do Sul**Estado:** RS**CEP:****País:** BRASIL**Telefone:****Fax:****Email:**

## Inventor 3 de 5

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 23/12/2021 às 17:13, Petição 870210120274

**Nome:** JANICE BOTELHO SOUZA HAMM

**CPF:** 01511214007

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua Trento, n. 84

**Cidade:** Canoas

**Estado:** RS

**CEP:** 92030-084

**Pais:** BRASIL

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

Inventor 4 de 5

**Nome:** JANE DAGMAR POLLO RENNER

**CPF:** 77056485049

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua Gaspar Silveira Martins, n. 888 casa 04

**Cidade:** Santa Cruz do Sul

**Estado:** RS

**CEP:** 96820-575

**Pais:** BRASIL

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

Inventor 5 de 5

**Nome:** LILIANE DAMARIS POLLO  
**CPF:** 94806012068  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua Curvelo, 200, ap 303  
**Cidade:** Porto Alegre  
**Estado:** RS  
**CEP:** 90410-010  
**País:** BRASIL  
**Telefone:**  
**Fax:**  
**Email:**

#### Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	INPI (1).pdf
Documento de Cessão	Termo de Cessão UNISC.pdf
Documento de Cessão	Termo de cessão assinado - Liliane Damaris Pollo.pdf
Contrato de Cotitularidade	SEI_UFRGS - 3294617 - Contrato.pdf
Procuração	Procuração UFRGS para UNISC_EOCL.pdf
Desenho	Desenhos.pdf
Reivindicação	Reivindicações.pdf
Relatório Descritivo	Relatório Descritivo.pdf
Resumo	Resumo.pdf

#### Acesso ao Patrimônio Genético

---

- Declaração Positiva de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, realizado a partir de 30 de junho de 2000, e que foram cumpridas as determinações da Lei 13.123 de 20 de maio de 2015, informando ainda:

**Número da Autorização de Acesso:** A98EBF9  
**Data da Autorização de Acesso:** 05/01/2021

#### Declaração de veracidade

---

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

#### PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 23/12/2021 às 17:13, Petição 870210120274

## ANEXO D – Aceite do artigo na Revista Saúde (Santa Maria)

### Notificações

x

### [Saúde(Sta.Maria)] Decisão editorial

2022-10-04 09:01

Prezados Betina Brixner, Flavia Baierle, Eliane Carlosso Krummenauer, Chana de Medeiros da Silva, Liliane Damaris Pollo, Jane Dagmar Pollo Renner,

Em relação ao seu artigo intitulado "EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO PARA O DESENVOLVIMENTO DE INFECÇÃO DE CORRENTE SANGUÍNEA RELACIONADO AO USO DE CATETER EM UMA UTI NEOPEDIÁTRICA NO SUL DO BRASIL", submetido à revista Saúde (Santa Maria), tomou-se a decisão anexada a este e-mail.

Destacamos que a Revista Saúde (Santa Maria) sentir-se-á honrada em receber futuros trabalhos de sua autoria.

Estamos a disposição para eventuais dúvidas,

Att.

---

Revista Saúde (Santa Maria)

<https://periodicos.ufsm.br/revistasaude/>

### [Saúde(Sta.Maria)]

x

### Participantes

Rosmari Horner (rhorner)

Srta. Betina Brixner (betinabrixner)

### Mensagens

Nota	De
Seu artigo foi aceito para publicação.	rhorner
Em breve enviaremos o proof para sua aprovação.	2022-10-04 09:01
Att	
<hr/>	
Revista Saúde (Santa Maria)	
<a href="https://periodicos.ufsm.br/revistasaude/">https://periodicos.ufsm.br/revistasaude/</a>	

## RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

*Letter of Acceptance*

The manuscript entitled "Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa", submitted on "10/16/2022" was accepted for publication and will be published within 30 days in the Research, Society and Development Journal - ISSN 2525-3409.

The manuscript is authored by:

Betina Brixner, Chana de Medeiros da Silva, Liliame Damaris Pollo and Jane Dagmar Pollo Renner.

São Paulo, October 28, 2022, Brazil.



Dr. Ricardo Shitsuka  
Editor



## ANEXO F – Normas para publicação na Revista *Materials* (Basel)

### MANUSCRIPT SUBMISSION OVERVIEW

#### Types of Publications

*Materials* has no restrictions on the length of manuscripts, provided that the text is concise and comprehensive. Full experimental details must be provided so that the results can be reproduced. *Materials* requires that authors publish all experimental controls and make full datasets available where possible (see the guidelines on **Supplementary Materials** and references to unpublished data).

Manuscripts submitted to *Materials* should neither be published previously nor be under consideration for publication in another journal. The main article types are as follows:

- *Articles*: Original research manuscripts. The journal considers all original research manuscripts provided that the work reports scientifically sound experiments and provides a substantial amount of new information. Authors should not unnecessarily divide their work into several related manuscripts, although short *Communications* of preliminary, but significant, results will be considered. The quality and impact of the study will be considered during peer review.
- *Reviews*: These provide concise and precise updates on the latest progress made in a given area of research. Systematic reviews should follow the PRISMA **guidelines**.

#### Submission Process

Manuscripts for *Materials* should be submitted online at **susy.mdpi.com**. The submitting author, who is generally the corresponding author, is responsible for the manuscript during the submission and peer-review process. The submitting author must ensure that all eligible co-authors have been included in the author list (read the **criteria to qualify for authorship**) and that they have all read and approved the submitted version of the manuscript. To submit your manuscript, register and log in to the **submission website**. Once you have registered, **click here to go to the submission form for *Materials***. All co-authors can see the manuscript details in the submission system, if they register and log in using the e-mail address provided during manuscript submission.

#### Accepted File Formats

Authors are encouraged to use the **Microsoft Word template** or **LaTeX template** to prepare their manuscript. Using the template file will substantially shorten the time to complete copy-editing and publication of accepted manuscripts. The total amount of data for all files must not exceed 120 MB. If this is a problem, please contact the Editorial Office **materials@mdpi.com**. Accepted file formats are:

- *Microsoft Word*: Manuscripts prepared in Microsoft Word must be converted into a single file before submission. When preparing manuscripts in Microsoft Word, we encourage you to use the ***Materials* Microsoft Word template file**. Please insert your graphics (schemes, figures, *etc.*) in the main text after the paragraph of its first citation.
- *LaTeX*: Manuscripts prepared in LaTeX must be collated into one ZIP folder (including all source files and images, so that the Editorial Office can recompile the submitted PDF). When preparing manuscripts in LaTeX, we encourage you to use

the **Materials LaTeX template files**. You can now also use the online application **writeLaTeX** to submit articles directly to *Materials*. The MDPI LaTeX template file should be selected from the **writeLaTeX template gallery**.

- *Supplementary files*: May be any format, but it is recommended that you use common, non-proprietary formats where possible (see **below** for further details).

**Disclaimer: Usage of these templates is exclusively intended for submission to the journal for peer-review, and strictly limited to this purpose and it cannot be used for posting online on preprint servers or other websites.**

### *Free Format Submission*

*Materials* now accepts free format submission:

- We do not have strict formatting requirements, but all manuscripts must contain the required sections: Author Information, Abstract, Keywords, Introduction, Materials & Methods, Results, Conclusions, Figures and Tables with Captions, Funding Information, Author Contributions, Conflict of Interest and other Ethics Statements. Check the Journal ***Instructions for Authors*** for more details.
- Your references may be in any style, provided that you use the consistent formatting throughout. It is essential to include author(s) name(s), journal or book title, article or chapter title (where required), year of publication, volume and issue (where appropriate) and pagination. DOI numbers (Digital Object Identifier) are not mandatory but highly encouraged. The bibliography software package *EndNote*, *Zotero*, *Mendeley*, *Reference Manager* are recommended.
- When your manuscript reaches the revision stage, you will be requested to format the manuscript according to the journal guidelines.

### **Cover Letter**

A cover letter must be included with each manuscript submission. It should be concise and explain why the content of the paper is significant, placing the findings in the context of existing work. It should explain why the manuscript fits the scope of the journal.

Any prior submissions of the manuscript to MDPI journals must be acknowledged. If this is the case, it is strongly recommended that the previous manuscript ID is provided in the submission system, which will ease your current submission process. The names of proposed and excluded reviewers should be provided in the submission system, not in the cover letter.

All cover letters are required to include the statements:

- We confirm that neither the manuscript nor any parts of its content are currently under consideration or published in another journal.
- All authors have approved the manuscript and agree with its submission to (journal name).

### **Author Biography**

Authors are encouraged to add a biography (maximum 150 words) to the submission and post it to **SciProfiles**. This should be a single paragraph and should contain the following points:

1. Authors' full names followed by current positions;

2. Education background including institution information and year of graduation (type and level of degree received);
3. Work experience;
4. Current and previous research interests;
5. Memberships of professional societies and awards received.

Note for Authors Funded by the National Institutes of Health (NIH)

This journal automatically deposits papers to PubMed Central after publication of an issue. Authors do not need to separately submit their papers through the NIH Manuscript Submission System (NIHMS, <http://nihms.nih.gov/>).

## Manuscript Preparation

### General Considerations

- **Research manuscripts** should comprise:
  - **Front matter:** Title, Author list, Affiliations, Abstract, Keywords
  - **Research manuscript sections:** Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions (optional).
  - **Back matter:** Supplementary Materials, Acknowledgments, Author Contributions, Conflicts of Interest, **References**.
- **Review manuscripts** should comprise the **front matter**, literature review sections and the **back matter**. The template file can also be used to prepare the front and back matter of your review manuscript. It is not necessary to follow the remaining structure. Structured reviews and meta-analyses should use the same structure as research articles and ensure they conform to the **PRISMA** guidelines.

- **Graphical Abstract:**

A graphical abstract (GA) is an image that appears alongside the text abstract in the Table of Contents. In addition to summarizing the content, it should represent the topic of the article in an attention-grabbing way. Moreover, it should not be exactly the same as the Figure in the paper or just a simple superposition of several subfigures. Note that the GA must be original and unpublished artwork. Any postage stamps, currency from any country, or trademarked items should not be included in it.

The GA should be a high-quality illustration or diagram in any of the following formats: PNG, JPEG, TIFF, or SVG. Written text in a GA should be clear and easy to read, using one of the following fonts: Times, Arial, Courier, Helvetica, Ubuntu or Calibri.

The minimum required size for the GA is 560 × 1100 pixels (height × width). The size should be of high quality in order to reproduce well.

- **Acronyms/Abbreviations/Initialisms** should be defined the first time they appear in each of three sections: the abstract; the main text; the first figure or table. When defined for the first time, the acronym/abbreviation/initialism should be added in parentheses after the written-out form.
- **SI Units** (International System of Units) should be used. Imperial, US customary and other units should be converted to SI units whenever possible.

- **Equations:** If you are using Word, please use either the Microsoft Equation Editor or the MathType add-on. Equations should be editable by the editorial office and not appear in a picture format.
- **Research Data and supplementary materials:** Note that publication of your manuscript implies that you must make all materials, data, and protocols associated with the publication available to readers. Disclose at the submission stage any restrictions on the availability of materials or information. Read the information about **Supplementary Materials** and Data Deposit for additional guidelines.
- **Preregistration:** Where authors have preregistered studies or analysis plans, links to the preregistration must be provided in the manuscript.
- **Guidelines and standards:** MDPI follows standards and guidelines for certain types of research. See [https://www.mdpi.com/editorial\\_process](https://www.mdpi.com/editorial_process) for further information.

## Front Matter

These sections should appear in all manuscript types

- **Title:** The title of your manuscript should be concise, specific and relevant. It should identify if the study reports (human or animal) trial data, or is a systematic review, meta-analysis or replication study. Please do not include abbreviated or short forms of the title, such as a running title or head. These will be removed by our Editorial Office.
- **Author List and Affiliations:** Authors' full first and last names must be provided. The initials of any middle names can be added. The PubMed/MEDLINE standard format is used for affiliations: complete address information including city, zip code, state/province, and country. At least one author should be designated as corresponding author, and his or her email address and other details should be included at the end of the affiliation section. Please read the **criteria to qualify for authorship**.
- **Abstract:** The abstract should be a total of about 200 words maximum. The abstract should be a single paragraph and should follow the style of structured abstracts, but without headings: 1) Background: Place the question addressed in a broad context and highlight the purpose of the study; 2) Methods: Describe briefly the main methods or treatments applied. Include any relevant preregistration numbers, and species and strains of any animals used. 3) Results: Summarize the article's main findings; and 4) Conclusion: Indicate the main conclusions or interpretations. The abstract should be an objective representation of the article: it must not contain results which are not presented and substantiated in the main text and should not exaggerate the main conclusions.
- **Keywords:** Three to ten pertinent keywords need to be added after the abstract. We recommend that the keywords are specific to the article, yet reasonably common within the subject discipline.

## Research Manuscript Sections

- **Introduction:** The introduction should briefly place the study in a broad context and highlight why it is important. It should define the purpose of the work and its significance, including specific hypotheses being tested. The current state of the research field should be reviewed carefully and key publications cited. Please highlight controversial and diverging hypotheses when necessary. Finally, briefly mention the

main aim of the work and highlight the main conclusions. Keep the introduction comprehensible to scientists working outside the topic of the paper.

- **Materials and Methods:** They should be described with sufficient detail to allow others to replicate and build on published results. New methods and protocols should be described in detail while well-established methods can be briefly described and appropriately cited. Give the name and version of any software used and make clear whether computer code used is available. Include any pre-registration codes.
- **Results:** Provide a concise and precise description of the experimental results, their interpretation as well as the experimental conclusions that can be drawn.
- **Discussion:** Authors should discuss the results and how they can be interpreted in perspective of previous studies and of the working hypotheses. The findings and their implications should be discussed in the broadest context possible and limitations of the work highlighted. Future research directions may also be mentioned. This section may be combined with Results.
- **Conclusions:** This section is not mandatory but can be added to the manuscript if the discussion is unusually long or complex.
- **Patents:** This section is not mandatory but may be added if there are patents resulting from the work reported in this manuscript.

#### Back Matter

- **Supplementary Materials:** Describe any supplementary material published online alongside the manuscript (figure, tables, video, spreadsheets, etc.). Please indicate the name and title of each element as follows Figure S1: title, Table S1: title, etc.
- **Funding:** All sources of funding of the study should be disclosed. Clearly indicate grants that you have received in support of your research work and if you received funds to cover publication costs. Note that some funders will not refund article processing charges (APC) if the funder and grant number are not clearly and correctly identified in the paper. Funding information can be entered separately into the submission system by the authors during submission of their manuscript. Such funding information, if available, will be deposited to FundRef if the manuscript is finally published. Please add: “This research received no external funding” or “This research was funded by [name of funder] grant number [xxx]” and “The APC was funded by [XXX]” in this section. Check carefully that the details given are accurate and use the standard spelling of funding agency names at <https://search.crossref.org/funding>, any errors may affect your future funding.
- **Acknowledgments:** In this section you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind (e.g., materials used for experiments).
- **Author Contributions:** Each author is expected to have made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work; or have drafted the work or substantively revised it; AND has approved the submitted version (and version substantially edited by journal staff that involves the author’s contribution to the study); AND agrees to be personally accountable for the author’s own contributions and for

ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work, even ones in which the author was not personally involved, are appropriately investigated, resolved, and documented in the literature. For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used "Conceptualization, X.X. and Y.Y.; Methodology, X.X.; Software, X.X.; Validation, X.X., Y.Y. and Z.Z.; Formal Analysis, X.X.; Investigation, X.X.; Resources, X.X.; Data Curation, X.X.; Writing – Original Draft Preparation, X.X.; Writing – Review & Editing, X.X.; Visualization, X.X.; Supervision, X.X.; Project Administration, X.X.; Funding Acquisition, Y.Y.", please turn to the **CRedit taxonomy** for the term explanation. For more background on CRedit, see [here](#). **"Authorship must include and be limited to those who have contributed substantially to the work. Please read the section concerning the criteria to qualify for authorship carefully"**.

- **Institutional Review Board Statement:** In this section, please add the Institutional Review Board Statement and approval number for studies involving humans or animals. Please note that the Editorial Office might ask you for further information. Please add "The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of NAME OF INSTITUTE (protocol code XXX and date of approval)." OR "Ethical review and approval were waived for this study, due to REASON (please provide a detailed justification)." OR "Not applicable" for studies not involving humans or animals. You might also choose to exclude this statement if the study did not involve humans or animals.
- **Informed Consent Statement:** Any research article describing a study involving humans should contain this statement. Please add "Informed consent was obtained from all subjects involved in the study." OR "Patient consent was waived due to REASON (please provide a detailed justification)." OR "Not applicable" for studies not involving humans. You might also choose to exclude this statement if the study did not involve humans.  
Written informed consent for publication must be obtained from participating patients who can be identified (including by the patients themselves). Please state "Written informed consent has been obtained from the patient(s) to publish this paper" if applicable.
- **Data Availability Statement:** In this section, please provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study. Please refer to suggested Data Availability Statements in section "**MDPI Research Data Policies**". You might choose to exclude this statement if the study did not report any data.
- **Conflicts of Interest:** Authors must identify and declare any personal circumstances or interest that may be perceived as influencing the representation or interpretation of reported research results. If there is no conflict of interest, please state "The authors declare no conflict of interest." Any role of the funding sponsors in the choice of research project; design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results must be declared in this section. *Materials* does not publish studies funded partially or fully by the tobacco industry. Any projects funded by industry must pay special attention to the full declaration of funder involvement. If there is no role, please state "The sponsors had no

role in the design, execution, interpretation, or writing of the study”. For more details please see **Conflict of Interest**.

- **References:** References must be numbered in order of appearance in the text (including table captions and figure legends) and listed individually at the end of the manuscript. We recommend preparing the references with a bibliography software package, such as **EndNote**, **ReferenceManager** or **Zotero** to avoid typing mistakes and duplicated references. We encourage citations to data, computer code and other citable research material. If available online, you may use reference style 9. below.
- Citations and References in Supplementary files are permitted provided that they also appear in the main text and in the reference list.

In the text, reference numbers should be placed in square brackets [ ], and placed before the punctuation; for example [1], [1–3] or [1,3]. For embedded citations in the text with pagination, use both parentheses and brackets to indicate the reference number and page numbers; for example [5] (p. 10). or [6] (pp. 101–105).

The reference list should include the full title, as recommended by the ACS style guide. Style files for **Endnote** and **Zotero** are available.

References should be described as follows, depending on the type of work:

- Journal Articles:

1. Author 1, A.B.; Author 2, C.D. Title of the article. *Abbreviated Journal Name* **Year**, *Volume*, page range.

- Books and Book Chapters:

2. Author 1, A.; Author 2, B. *Book Title*, 3rd ed.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; pp. 154–196.

3. Author 1, A.; Author 2, B. Title of the chapter. In *Book Title*, 2nd ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; Volume 3, pp. 154–196.

- Unpublished materials intended for publication:

4. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work (optional). Correspondence Affiliation, City, State, Country. year, *status (manuscript in preparation; to be submitted)*.

5. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. *Abbreviated Journal Name* year, *phrase indicating stage of publication (submitted; accepted; in press)*.

- Unpublished materials not intended for publication:

6. Author 1, A.B. (Affiliation, City, State, Country); Author 2, C. (Affiliation, City, State, Country). Phase describing the material, year. (phase: Personal communication; Private communication; Unpublished work; etc.)

- Conference Proceedings:

7. Author 1, A.B.; Author 2, C.D.; Author 3, E.F. Title of Presentation. In *Title of the Collected Work* (if available), Proceedings of the Name of the Conference, Location of Conference, Country, Date of Conference; Editor 1, Editor 2, Eds. (if available); Publisher: City, Country, Year (if available); Abstract Number (optional), Pagination (optional).

- Thesis:

8. Author 1, A.B. Title of Thesis. Level of Thesis, Degree-Granting University, Location of University, Date of Completion.

- Websites:

9. Title of Site. Available online: URL (accessed on Day Month Year).

Unlike published works, websites may change over time or disappear, so we encourage you create an archive of the cited website using a service such as **WebCite**. Archived websites should be cited using the link provided as follows:

10. Title of Site. URL (archived on Day Month Year).

See the **Reference List and Citations Guide** for more detailed information.

### Preparing Figures, Schemes and Tables

- File for Figures and Schemes must be provided during submission in a single zip archive and at a sufficiently high resolution (minimum 1000 pixels width/height, or a resolution of 300 dpi or higher). Common formats are accepted, however, TIFF, JPEG, EPS and PDF are preferred.
- *Materials* can publish multimedia files in articles or as supplementary materials. Please contact the editorial office for further information.
- All Figures, Schemes and Tables should be inserted into the main text close to their first citation and must be numbered following their number of appearance (Figure 1, Scheme I, Figure 2, Scheme II, Table 1, *etc.*).
- All Figures, Schemes and Tables should have a short explanatory title and caption.
- All table columns should have an explanatory heading. To facilitate the copy-editing of larger tables, smaller fonts may be used, but no less than 8 pt. in size. Authors should use the Table option of Microsoft Word to create tables.
- Authors are encouraged to prepare figures and schemes in color (RGB at 8-bit per channel). There is no additional cost for publishing full color graphics.

### Supplementary Materials, Data Deposit and Software Source Code

#### *MDPI Research Data Policies*

MDPI is committed to supporting open scientific exchange and enabling our authors to achieve best practices in sharing and archiving research data. We encourage all authors of articles published in MDPI journals to share their research data. Individual journal guidelines can be found at the journal 'Instructions for Authors' page. Data sharing policies concern the minimal dataset that supports the central findings of a published study. Generated data should be publicly available and cited in accordance with journal guidelines.

MDPI data policies are informed by **TOP Guidelines** and **FAIR Principles**.

Where ethical, legal or privacy issues are present, data should not be shared. The authors should make any limitations clear in the Data Availability Statement upon submission. Authors should ensure that data shared are in accordance with consent provided by participants on the use of confidential data.

Data Availability Statements provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study.

Below are suggested Data Availability Statements:



- Data available in a publicly accessible repository  
The data presented in this study are openly available in [repository name e.g., FigShare] at [doi], reference number [reference number].
- Data available in a publicly accessible repository that does not issue DOIs  
Publicly available datasets were analyzed in this study. This data can be found here: [link/accession number]
- Data available on request due to restrictions eg privacy or ethical  
The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to [insert reason here]
- 3rd Party Data  
Restrictions apply to the availability of these data. Data was obtained from [third party] and are available [from the authors / at URL] with the permission of [third party].
- Data sharing not applicable  
No new data were created or analyzed in this study. Data sharing is not applicable to this article.
- Data is contained within the article or supplementary material  
The data presented in this study are available in [insert article or supplementary material here]

#### Data citation:

- [dataset] Authors. Year. Dataset title; Data repository or archive; Version (if any); Persistent identifier (e.g., DOI).

#### *Computer Code and Software*

For work where novel computer code was developed, authors should release the code either by depositing in a recognized, public repository or uploading as supplementary information to the publication. The name and version of all software used should be clearly indicated.

#### *Supplementary Material*

Additional data and files can be uploaded as "Supplementary Files" during the manuscript submission process. The supplementary files will also be available to the referees as part of the peer-review process. Any file format is acceptable, however we recommend that common, non-proprietary formats are used where possible. For more information on supplementary materials, please refer to [https://www.mdpi.com/authors/layout#\\_bookmark83](https://www.mdpi.com/authors/layout#_bookmark83).

#### *Unpublished Data*

Restrictions on data availability should be noted during submission and in the manuscript. "Data not shown" should be avoided: authors are encouraged to publish all observations related to the submitted manuscript as Supplementary Material. "Unpublished data" intended for publication in a manuscript that is either planned, "in preparation" or "submitted" but not yet accepted, should be cited in the text and a reference should be added in the References section. "Personal Communication" should also be cited in the text and reference added in the References section. (see also the MDPI reference list and citations style guide).

#### *Remote Hosting and Large Data Sets*

Data may be deposited with specialized service providers or institutional/subject repositories, preferably those that use the DataCite mechanism. Large data sets and files greater than 60 MB must be deposited in this way. For a list of other repositories specialized in scientific and experimental data, please consult [databib.org](http://databib.org) or [re3data.org](http://re3data.org). The data repository name, link to the data set (URL) and accession number, doi or handle number of the data set must be provided in the paper. The journal **Data** also accepts submissions of data set papers.

*References in Supplementary Files*

Citations and References in Supplementary files are permitted provided that they also appear in the reference list of the main text.