

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA EM TECIDO NÃO TECIDO (TNT) ACABADO COM GOFRESH EU® CONTRA MICRORGANISMOS MULTIRRESISTENTES

Isabel Rodrigues Soares^{1,2}, Sônia Khouri Sibelino¹, Guilherme Rodrigues Teodoro².

¹Universidade do Vale do Paraíba, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova – 12244-000 - São José dos Campos - SP, Brasil, isabelrsoares2002@gmail.com; skkhour@gmail.com

²Golden Technology Ltda/Centro de Estudos e Análises Microbiológicas (CEAM), Avenida Shishima Hifumi, 2911, Bloco 09, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos – SP, Brasil, isabelrsoares2002@gmail.com; guilherme@goldentecnologia.com

Resumo

O uso de artigos de proteção individual descartáveis de Tecido Não Tecido (TNT) revestidos de antimicrobianos como o GoFresh EU® pode controlar a disseminação de microrganismos em ambiente hospitalar, inclusive de cepas multirresistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase e *Acinetobacter baumannii*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de TNT acabado com GoFresh EU® contra tais microrganismos. Utilizou-se a metodologia ASTM E2149-20, onde após contato dinâmico das bactérias com o TNT sem tratamento e tratado com diferentes concentrações de GoFresh EU® (0,50% e 1,00%), foi determinado o percentual de redução e análise estatística com 95,00% de significância ($p < 0,05$). Nas amostras tratadas com GoFresh EU®, os percentuais de redução foram superiores a 99,00 % em relação ao controle, sendo estas reduções significantes ($p < 0,05$) em relação ao controle e ao TNT sem tratamento. Tais achados tornam o TNT tratado com GoFresh EU® uma promissora alternativa no controle de microrganismos, inclusive multirresistentes em ambientes hospitalares.

Palavras-chave: Resistência a antimicrobianos. Tecido Não Tecido. Microrganismos multirresistentes.

Área do Conhecimento: Biomedicina.

Introdução

A Resistência aos Antimicrobianos (RAM) é um mecanismo desenvolvido por microrganismos que, apesar de ocorrer naturalmente, vem sendo acelerado devido ao uso inadequado de antimicrobianos, tanto na saúde quanto na indústria. De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente (2024), a RAM é considerada uma ameaça global à saúde pública, sendo uma das principais causas de morte no mundo. No Brasil, este problema se destaca com a prevalência de infecções por microrganismos multirresistentes adquiridas principalmente em ambientes de saúde, como hospitais.

Dentre as bactérias responsáveis por maior número de mortes atribuídas à resistência a antimicrobianos, destacam-se as espécies *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii*. Quanto a *S. aureus*, a cepa resistente a meticilina (SARM) é responsável por milhares de mortes, ressaltando sua relevância em infecções associadas a ambientes de saúde (Murray et al, 2022). Já *A. baumannii* representa um complexo muito frequente em infecções hospitalares por ser capaz de desenvolver resistência a diversos fármacos, incluindo os carbapenêmicos (Brasil, 2024). De forma semelhante, a cepa de *K. pneumoniae* produtora da enzima carbapenemase (KPC), se mostra tão fatal quanto as bactérias mencionadas previamente, com maior mortalidade em pacientes oncológicos (Ramos-Castañeda et al, 2018).

Em ambientes de saúde, como hospitais, é comum o uso de vestimentas protetivas descartáveis pelos profissionais da saúde. Ao tratar pacientes com doenças infecciosas, estes profissionais são expostos constantemente a patógenos e ao risco de contrair uma infecção. Artigos de proteção individual, como jalecos de uso único, cuja composição usualmente é de fibras sintéticas, como o Tecido Não Tecido (TNT), podem proporcionar uma barreira física protetiva contra fluidos potencialmente infecciosos. Porém, eles também são susceptíveis a contaminação, podendo ainda agir como um meio de disseminação, transmitindo microrganismos a outros indivíduos, superfícies, equipamentos (Zapata-Giraldo et al, 2018; Karim et al, 2020).

A aplicação de antimicrobianos eficientes em têxteis utilizados em ambientes de saúde pode ser um auxílio efetivo na prevenção de contaminação e transmissão de patógenos entre pacientes e profissionais da saúde, de modo a eliminar ou inativar os microrganismos após o contato, aumentando seu potencial protetivo e evitando a transmissão (Zapata-Giraldo *et al*, 2018; Karim *et al*, 2020). Dentre estes antimicrobianos, encontra-se o GoFresh EU®, caracterizado por ser um polímero sintético catiônico, cuja ação se baseia na destruição da membrana celular bacteriana após o contato, devido a interação eletrostática do polímero, carregado positivamente, com a membrana bacteriana de carga negativa. Considerando que entre os microrganismos mais comumente associados a este tipo de contaminação estão as bactérias multirresistentes, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia de TNT acabado com GoFresh EU® contra SARM, *A. baumannii* e KPC, visando um promissor método de controle de transmissão de infecções hospitalares.

Metodologia

As amostras de TNT e o produto GoFresh EU® foram fornecidas pela empresa Golden Technology. A aplicação do produto foi pelo método contínuo. Para tal, inicialmente preparou-se o banho de aplicação de acordo com os parâmetros inseridos na Tabela 1:

Tabela 1- Parâmetros de preparo do banho de aplicação de GoFresh EU® em TNT.

Concentração desejada (g/L)	GoFresh EU® (g)	Água deionizada (g)	Volume final (g)
5,00	5,00	995,00	1000,00
10,00	10,00	990,00	1000,00

Fonte: o autor.

Foram pesados fragmentos de TNT de cerca de 4 gramas cada, que depois foram inseridos em 300 gramas do banho de aplicação, permanecendo até completa absorção do líquido. Sequencialmente, os fragmentos de TNT passaram por uma máquina do tipo *foulard* onde foram espremidos e novamente pesados. Desta maneira, foi possível o cálculo do *pick-up* através da seguinte fórmula: $\text{Peso inicial} - \text{Peso final} / \text{Peso inicial} \times 100$. Em seguida, os fragmentos foram secos em rama com temperatura de 120°C. Para determinação do percentual de GoFresh EU® sob o TNT, utilizou-se a seguinte fórmula: $\text{pick-up} \times \text{concentração desejada} / 1000$. Ao final, os parâmetros obtidos após a aplicação estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2- Parâmetros obtidos após a aplicação de GoFresh EU® em TNT.

Peso inicial do TNT (g)	Peso final do TNT (g)	Pick-up (%)	Concentração desejada (g/L)	Percentual de produto sob o TNT (%)
4,00	8,00	100,00	5,00	0,50
4,00	8,00	100,00	10,00	1,00

Fonte: o autor.

Para avaliar a atividade antimicrobiana do GoFresh EU®, foi realizada, em três experimentos independentes em triplicatas, a metodologia padrão da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) E2149-20, com algumas adaptações. O princípio desta norma consiste na análise quantitativa do efeito antimicrobiano de uma determinada substância quando aplicada em tecido, mantendo a amostra tratada em contato dinâmico com os microrganismos a serem testados. Para tal, inicialmente foi cortado de maneira asséptica em fluxo laminar, cerca de 1g de cada amostra, sendo uma amostra sem aplicação do produto e outras duas com aplicação na concentração de 0,5% e 1,0% de GoFresh EU®, e disposto em frascos estéreis. Um frasco adicional foi designado para Controle, onde não foi colocado nenhum tecido, apenas o inóculo microbiano.

Para preparar o inóculo bacteriano, as cepas de *Acinetobacter baumannii* NCTC 13304, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM) NCTC 13552 e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) NCTC 13440 foram previamente cultivadas, individualmente, em ágar Triptona de Soja (TSA), incubadas por cerca de 22 horas a 35-37°C para obtenção de colônias isoladas.

Sequencialmente, foi inoculada uma colônia em caldo Triptona de Soja (TSB), também seguida de incubação a 35-37°C por 22 horas. Para obtenção do inóculo parcial, as culturas líquidas foram diluídas em TSB até atingir a Densidade Óptica (OD) de 0,990 ($\pm 0,01$) após leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 475nm. Para obtenção do inóculo final, os inóculos parciais foram diluídos em solução de KH_2PO_4 , sendo que para cada 100mL de KH_2PO_4 , respectivamente foram pipetados 280 μL , 350 μL , 60 μL dos inóculos parciais de *Acinetobacter baumannii*, SARM e KPC.

Em seguida, foi adicionado 50mL do inóculo final em cada frasco, incluindo o Controle, sendo deste último, retirado uma alíquota para determinação do “tempo zero” para confirmação da quantidade de microrganismos preconizada no inóculo final ($1,5 - 3,0 \times 10^5$ células/mL). Para tal, 1mL do inóculo foi transferido para um tubo com 9mL de solução KH_2PO_4 , seguindo para diluição seriada em base 10. Sequencialmente, foram pipetadas alíquotas destas diluições em uma placa de Petri, preenchida com meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA), pela técnica de *pour-plate*, seguindo para incubação em estufa a 35-37°C por 24h.

Posteriormente, os frascos foram levados a um equipamento *shaker* para contato dinâmico das amostras com a suspensão microbiana, pelo tempo de 60 (± 5) minutos a 300 rpm. Após o período, a solução pura e diluições base 10 do Controle e das amostras testadas foram plaqueadas em PCA pela técnica de *pour-plate* e todas as placas prosseguiram para incubação nas condições citadas previamente.

A análise dos resultados se deu pelo cálculo de percentual de redução através das quantidades médias de Unidades Formadoras de Colônia dos microrganismos por mililitro (UFC/mL) obtidas de cada amostra em relação à contagem obtida da amostra Controle através da seguinte fórmula: Média UFC/mL controle – Média UFC/mL amostra : Média UFC/mL controle x 100. Além disso, realizou-se análise estatística dos grupos com auxílio do programa GraphPad Prism® 5, onde os dados passaram pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido pelo teste ANOVA com pós-teste de Tukey, considerando-se nível de significância de 95,00 % ($p < 0,05$).

Resultados

Os percentuais de redução de cada amostra frente a cada microrganismo estão representados na Tabela 3. Conforme esperado, os valores dos percentuais de redução para as amostras sem produto foram menores do que os apresentados nas amostras tratadas GoFresh EU®. Nas amostras sem produto, os percentuais de redução variaram de 13,52 % a 29,33 %, e por outro lado, nas amostras tratadas com o antimicrobiano, os valores variaram de 99,74 % até superiores a 99,99 %.

Tabela 3- Percentuais de redução das amostras testadas.

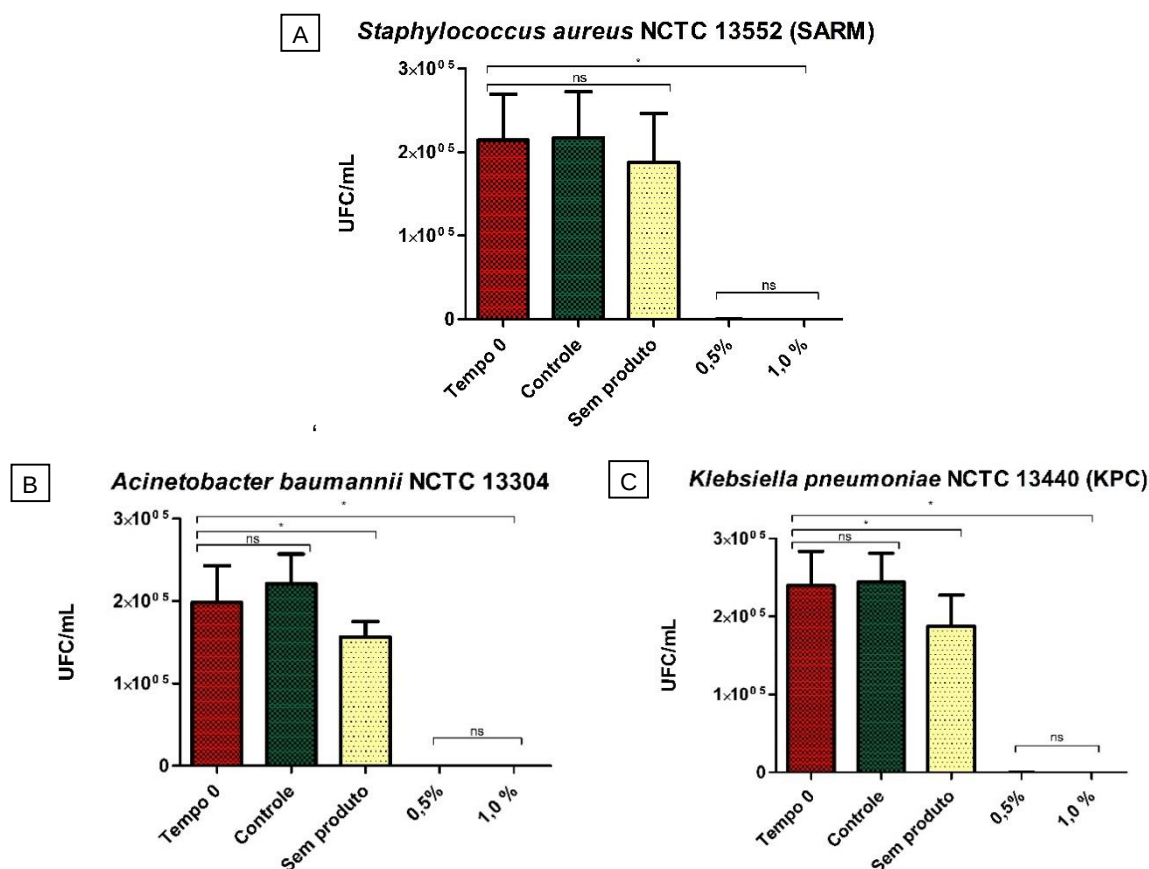
Microrganismo	Sem produto	0,5% GoFresh EU®	1,0% GoFresh EU®
<i>Acinetobacter baumannii</i> NCTC 13304	29,33%	> 99,99%	> 99,99%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> produtora de carbapenemase (KPC) NCTC 13440	23,16%	99,82%	> 99,99%
<i>S. aureus</i> resistente a metilicina (SARM) NCTC 13552	13,52%	99,74%	> 99,99%

Fonte: o autor; >: superior a.

A análise estatística demonstrou que não houve diferença relevante ($p > 0,05$) entre o “Tempo zero” e “Controle” em todas as espécies estudadas. Ademais, não houve redução microbiana estatisticamente significativa ($p > 0,05$) do “Sem produto” quando comparado ao “Controle” apenas para SARM, sendo esta comparação relevante ($p < 0,05$) nas demais espécies bacterianas. Nas 3 espécies bacterianas utilizadas no presente estudo, as amostras tratadas com GoFresh EU®, em ambas as concentrações (0,5% e 1,0%), apresentaram contagens de UFC/mL relevantemente menores ($p < 0,05$).

se comparadas a todos os demais grupos, não demonstrando, no entanto, diferença entre si ($p>0,05$). O resultado da análise estatística está ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Análise estatística dos grupos estudados.



Fonte: o autor; ns: não significante; *: significante. A: *Staphylococcus aureus* NCTC 13552; B: *Acinetobacter baumannii* NCTC 13304; C: *Klebsiella pneumoniae* NCTC 13440.

Discussão

A partir do presente estudo, foi possível observar resultados promissores, com redução bacteriana superior a 99% nas amostras com concentrações de 0,50% e superior a 99,9 % nas amostras com concentrações de 1,00 % do antimicrobiano GoFresh EU® (Golden Technology) em todas as espécies bacterianas estudadas. Achados na literatura corroboram com os resultados deste trabalho, uma vez que foi relatada uma substância sintética policatiónica fluorada aplicada em artigos têxteis que demonstrou eficiência bactericida de aproximadamente 99,90 % contra *Escherichia coli* e SARM, apesar da metodologia utilizada não ter sido a mesma (Song *et al*, 2021). Ademais, Meier *et al* (2023) também encontraram ação antimicrobiana contra SARM e *A. baumannii* utilizando uma substância catiónica a base de um quaternário de amônia aplicada em substratos têxteis. Todavia, o controle antibacteriano para *A. baumannii* foi apenas moderado, diferente dos satisfatórios resultados encontrados neste estudo, com os valores superiores a 99,90 %. Houve ainda relatos na literatura trazendo um outro polímero associado a aminoácidos que também mostraram expressivo controle em diferentes cepas de *A. baumannii* e de SARM e *Klebsiella quasipneumoniae*, apesar de não ter sido aplicado a artefatos têxteis (Barman *et al*, 2019).

Os relevantes resultados no controle de microrganismos em TNT acabado com o polímero antimicrobiano sintético catiónico GoFresh EU® vão ao encontro dos achados de Al-Tawfiq *et al* (2019), que semelhantemente utilizaram TNT de polipropileno acabado um polímero catiónico de quaternário de amônia no controle de diferentes cepas de bactérias multirresistentes, como *K. pneumoniae*, SARM,

A. baumannii e *Pseudomonas aeruginosa* e também com os achados de Dos Santos (2022), que, utilizando a mesma metodologia, obteve valores próximos a 100 % de redução microbiana em TNT acabado com quitosana, um biopolímero com propriedades antimicrobianas, associada a nanopartículas de prata, contra *S. aureus* e *Escherichia coli*. De maneira semelhante, extratos naturais também foram testados em aplicações em TNT por outros pesquisadores. Um estudo de 2021 avaliou a ação antibacteriana através do método de disco-difusão em ágar, com cepas resistentes a meticilina de *S. aureus* e *S. epidermidis*. Apesar das diferenças quanto à natureza do agente antimicrobiano e da metodologia utilizada, os resultados de inibição de microrganismos multirresistentes foram significativos, similarmente ao presente estudo (Takayama *et al*, 2021).

Houve redução bacteriana estatisticamente significativa no grupo sem produto em relação ao controle para *A. baumannii* e KPC. Estes achados podem ser explicados pela característica hidrofóbica do TNT, uma vez que a repelência a água pode inibir a contaminação microbiana (Parlin *et al*, 2020) e que polímeros hidrofóbicos, como os encontrados na constituição do TNT, podem ter ação antibacteriana, inclusive em bactérias Gram-negativas (Kuroda; Capudo; DeGrado, 2009). Todavia, a hidrofobicidade por si só é insuficiente para controlar a contaminação microbiana em TNT (Ueki *et al*, 2020), o que justifica a aplicação de substâncias antimicrobianas como o GoFresh EU®. Ademais, a redução microbiana para as 3 bactérias multirresistentes selecionadas para este trabalho foram significativamente maiores nos grupos em que o antimicrobiano foi aplicado no TNT em relação ao grupo controle ou no grupo sem produto.

Os promissores resultados do presente estudo ressaltam a importância da proteção antimicrobiana de artefatos, como o TNT, a serem utilizados no ambiente hospitalar, uma vez que a quantidade de bactérias recuperadas dos artigos com ausência do antimicrobiano, apesar de terem sido menores que o controle, ainda são suficientes para eventualmente serem disseminadas nestes ambientes. Ademais, ainda são escassos na literatura trabalhos que associem o uso de TNT acabado com antimicrobianos no controle de microrganismos, inclusive de multirresistentes, fato que justifica a execução deste trabalho. Entretanto, novos estudos com diferentes antimicrobianos, em diferentes concentrações e inclusão de novas cepas de bactérias e fungos são necessários para aprimorar as informações e ratificar os resultados.

Conclusão

A partir dos experimentos realizados neste estudo, pode-se observar que o acabamento de GoFresh EU® (Golden Technology) nas concentrações de 0,5% e 1,0% em TNT se mostrou eficaz em reduzir acima de 99% o crescimento bacteriano das espécies multirresistentes *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase e *Acinetobacter baumannii*. Dessa forma, pode-se concluir que o TNT com aplicação deste antimicrobiano pode representar uma nova ferramenta para auxílio no combate a transmissão de patógenos multirresistentes, principalmente em ambientes de saúde.

Referências

AL-TAWFIQ, J. A. *et al*. The effectiveness of antibacterial curtains in comparison with standard privacy curtains against transmission of microorganisms in a hospital setting. **Infez Med**, v. 27, p. 149-154, 2019.

ASTM International. E2149 Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions. 2020.

BARMAN, S. *et al*. Amino acid conjugated polymers: antibacterial agents effective against drug-resistant *Acinetobacter baumannii* with no detectable resistance. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 11, n. 37, p. 33559-33572, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Boletim epidemiológico: Microrganismos resistentes aos carbapenêmicos e sua distribuição no Brasil, 2015 a 2022. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024.

DOS SANTOS, T. A. Síntese in situ de nanopartículas de prata para obtenção de acabamento antibacteriano em tecido não tecido. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Maringá. 2022.

KARIM, N. *et al.* Sustainable personal protective clothing for healthcare applications: a review. **ACS nano**, v. 14, n. 10, p. 12313-12340, 2020.

KURODA, K.; CAPUTO, G.A.; DEGRADO, W.F. The role of hydrophobicity in the antimicrobial and hemolytic activities of polymethacrylate derivatives. **Chemistry–A European Journal**, v. 15, n. 5, p. 1123-1133, 2009. DOI: 10.1002/chem.200801523.

MEIER, P. *et al.* Quaternary ammonium-based coating of textiles is effective against bacteria and viruses with a low risk to human health. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 20556, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-47707-3.

MURRAY, C. J. L. *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

PARLIN, A. F. *et al.* A laboratory-based study examining the properties of silk fabric to evaluate its potential as a protective barrier for personal protective equipment and as a functional material for face coverings during the COVID-19 pandemic. **Plos one**, v. 15, n. 9, p. e0239531, 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0239531.

RAMOS-CASTAÑEDA, J. A. *et al.* Mortality due to KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: systematic review and meta-analysis: mortality due to KPC *Klebsiella pneumoniae* infections. **Journal of Infection**, v. 76, n. 5, p. 438-448, 2018.

SONG, Q. *et al.* One-step vapor deposition of fluorinated polycationic coating to fabricate antifouling and anti-infective textile against drug-resistant bacteria and viruses. **Chemical Engineering Journal**, v. 418, p. 129368, 2021.

TAKAYAMA, K. *et al.* Non-woven infection prevention fabrics coated with biobased cranberry extracts inactivate enveloped viruses such as SARS-CoV-2 and multidrug-resistant bacteria. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12719, 2021.

UEKI, H. *et al.* Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. **MSphere**, v. 5, n. 5, p. 10-1128, 2020. DOI: 10.1128/mSphere.00637-20.

ZAPATA-GIRALDO, J. *et al.* Textiles funcionales como barrera de protección ante infecciones asociadas a la atención en salud. **Revista EIA**, v. 15, n. 29, p. 13-29, 2018.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado no Centro de Estudos e Análises Microbiológicas (CEAM), na Universidade do Vale do Paraíba, e agradece ao CDLAB (Centro de Diagnósticos Laboratoriais) da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade do Vale do Paraíba e à empresa Golden Technology Ltda pelo suporte logístico e financeiro para realização dos estudos.