UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica

Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

Preparação e avaliação das propriedades físico-químicas de
membranas de quitosana para uso biomédico e farmacêutico

Karina Honda Adati

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Bronislaw Polakiewicz

São Paulo

¹
2006

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica

Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

**Preparação e avaliação das propriedades físico-químicas de
membranas de quitosana para uso biomédico e farmacêutico**

Karina Honda Adati

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Bronislaw Polakiewicz

São Paulo

2006

18.185

DEDALUS - Acervo - CQ

30100012581

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

A221p Adati, Karina Honda
Preparação e avaliação das propriedades físico-químicas de
membranas de quitosana para uso biomédico e farmacêutico /
Karina Honda Adati. -- São Paulo, 2006.
85p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia
Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Polakiewicz, Bronislaw

I. Polímeros : Química farmacêutica 2. Quitosana I. T.
II. Polakiewicz, Bronislaw, orientador.

615.19 CDD

Karina Honda Adati

Preparação e avaliação das propriedades físico-químicas de
membranas de quitosana para uso biomédico e farmacêutico

Comissão Julgadora da
Dissertação para obtenção do grau de
Mestre

Prof. Dr. Bronislaw Polakiewicz
Orientador/Presidente

1º Examinador

2º Examinador

15 de março 7
São Paulo, ~~dezembro~~ de 2006.

*A verdadeira compreensão das pessoas não é apenas
daquilo que se vê ou se ouve, mas entender principalmente
os mínimos gestos e atitudes que falam muito mais,
fazem as pessoas enxergarem melhor e
ter a sensibilidade de calar quando necessário.
Agradeço e dedico esse trabalho a meu
esposo, amigo e companheiro
Roberto Tsuyoshi Adati,
que soube compreender, falar ou calar
e me deu todo apoio para esse projeto ser concretizado.*

Sumário	i
Agradecimentos	iv
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	x
Resumo	xi
Abstract	xii
1 – Introdução e Revisão Bibliográfica	1
1.1 – Lesões crônicas	4
1.1.1 – Úlcera venosa de estase	4
1.1.2 – Úlcera diabética	5
1.1.3 – Úlcera de pressão	6
1.2 – Fisiologia de processo cicatricial	8
1.3 – Tratamentos	11
1.3.1 – Coberturas	11
1.3.1.1 – Filme de Poliuretano	12
1.3.1.2 – Hidrogel	13
1.3.1.3 – Hidrocolóide	13
1.3.1.4 – Papaína	14
1.3.1.5 – Alginatos	14
1.3.1.6 – Carvão ativado	15
1.3.1.7 – Sacarose	16
1.3.1.8 – Curativos impregnados com PVP-iodo	16
1.3.2 – Tratamento cirúrgico	16
1.3.2.1 – Enxerto de pele	16
1.4 – Características gerais da quitina e da quitosana	16
1.4.1 – Diferentes aplicações da quitina e da quitosana	21
1.5 – Solução de quitosana associada a diferentes materiais	24
1.5.1 – Nãotecido	24
1.5.2 – Musseline	25
1.5.3 – Poliéster	25
1.5.4 – Compressa absorvente	26
2 – Objetivos	27

3 – Material e Métodos	29
3.1 – Extração da quitina	30
3.2 – Obtenção da quitosana	32
3.3 – Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana	33
3.3.1 – Método colorimétrico da ninhidrina	33
3.3.2 – Método da titulação do sal de Br-quitosana	33
3.3.3 – Por infra-vermelho (IV)	34
3.4 – Grau de higroscopia	34
3.5 – Preparo das membranas	35
3.5.1 – Preparo das soluções	35
3.5.1.1 – Preparo da solução de ácido acético	35
3.5.1.2 – Preparo da solução de polivinilpirrolidona (PVP)	35
3.5.1.3 – Preparo das soluções de quitosana 1%, 2%, 3% e 6%	35
3.5.1.4 – Preparo da solução de quitosana-PVP com glutaraldeído e glioxal	36
3.5.1.5 – Preparo da solução de quitosana e colágeno	36
3.5.1.6 – Preparo da solução de quitosana e fibroína de seda	35
3.5.1.7 – Preparo da solução de quitosana e cinamaldeído	36
3.5.1.8 – Preparo da solução de quitosana e papaína	36
3.5.2 – Preparo das membranas	37
3.6 – Absorção de líquidos	40
3.7 – Microscopia eletrônica de varredura	40
4 – Resultados e Discussão	42
4.1 – Síntese da quitosana	42
4.2 – Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana pelo método colorimétrico da ninhidrina, titulação do sal de Br-quitosana e por infra-vermelho (IV)	42
4.3 – Grau de higroscopia	44
4.4 – Preparação das membranas de quitosana	44
4.4.1 – Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas em estufa e associadas a PVP e glutaraldeído	45
4.4.2 – Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas em estufa e associadas a PVP e glioxal	46

4.4.3 – Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por liofilização e associadas à PVP e glutaraldeído	47
4.4.4 – Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por liofilização e associadas à PVP e glioxal	48
4.4.5 – Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por estufa	49
4.4.6 – Membranas de quitosana a 3%, secas por liofilização e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos	51
4.4.7 – Membranas de quitosana a 2% e a 1%, liofilizadas e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos	55
4.4.8 – Membranas de quitosana associadas a diferentes substâncias, liofilizadas e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos	56
4.4.9 – Membranas de quitosana secas por liofilização, sem suporte mecânico	57
4.5 – Absorção de líquidos	59
4.6 – Microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana	61
4.7 - Preços	69
5 – Conclusões	71
6 – Referências Bibliográficas	74

A Deus, pelo fato de estar sempre me acompanhando, dando-me forças para lutar e, principalmente, para vencer.

Ao meu marido, e aos meus pais, por estarem presentes nos momentos mais difíceis e estarem sempre prontos para estenderem as mãos quando, por um momento de fraqueza, eu arquejava.

Ao Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho, assim como para o desenvolvimento de uma fase da minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Bronislaw Polakiewicz que orientou-me, compreendeu minhas dificuldades e passou seus conhecimentos, ajudando-me, desta forma, a obter mais uma valiosa conquista.

A todos os professores do curso de pós-graduação que me prepararam, cada um à sua maneira, para desvendar os verdadeiros “mistérios” que estariam por vir.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Pitombo que cedeu prontamente o liofilizador.

Ao Gledson pela precisão e responsabilidade na liofilização de todas minhas amostras.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) pelo auxílio no teste de Infra-vermelho.

A Universidade de Campinas, em especial a Profa. Dra. Marisa Masumi Beppu.

As amigas Karine Gargioni e Leandra Bernusso que tanto me ensinaram e ajudaram e que tão bem me receberam no laboratório.

Ao amigo Fabrício Soares Arantes pelo apoio e amizade.

Às secretárias do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Elza e Mirian pela competência, carinho e amizade.

A todos os funcionários do Laboratório Semi-Industrial e do bloco 16 da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo que de uma maneira ou de outra participaram na realização deste trabalho.

A minha eterna Batian, meus sogros, irmãos, cunhados e sobrinhos que tanto me ajudaram, seja com palavras de estímulo, seja com palavras de conforto ou apenas com um sorriso, mas que estiveram sempre presentes.

Figura 1 – Lesão crônica de estase.	5
Figura 2 – Estase venosa: diferentes estágios evolutivos.	5
Figura 3 – Diagrama demonstrando a pressão exercida na região de uma proeminência óssea.	6
Figura 4 – Estrutura química da quitina.	17
Figura 5 – Estrutura química da quitosana.	17
Figura 6 – Estrutura química da celulose.	17
Figura 7 – O ciclo da quitina	19
Figura 8 – Matéria-prima (camarão) para obtenção da quitosana (em pó e em solução).	30
Figura 9 – Obtenção da quitina	32
Figura 10 – Obtenção da quitosana	33
Figura 11 – Suportes mecânicos usados no preparo de membranas de quitosana.	37
Figura 12 – Quitosana em pó sintetizada no Laboratório de Tecnologia Químico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo.	42
Figura 13 – Curva das densidades ópticas do monômero de D-glicosamina pela concentração em µg de amostra.	43
Figura 14 – Espectroscopia de Infra-Vermelho da amostra de quitosana.	43
Figura 15 – Grau de Higroscopia da quitosana em câmaras com diferentes umidades relativas.	44
Figura 16 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glutaraldeído (A)	45
Figura 17 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído (B)	45
Figura 18 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glutaraldeído (C)	45
Figura 19 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glioxal (D)	46
Figura 20 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glioxal (E)	46
Figura 21 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glioxal (F)	46
Figura 22 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glutaraldeído (G)	47
Figura 23 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído (H)	47
Figura 24 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glutaraldeído(I)	47
Figura 25 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glioxal (J)	48
Figura 26 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glioxal (K)	48
Figura 27 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glioxal(L)	48

Figura 28 – Membranas de quitosana 1,5% (M)	49
Figura 29 – Membrana de quitosana 6%, lavada com PBS (N)	50
Figura 30 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 80 (O)	50
Figura 31 – Membrana de quitosana 3% + fibra de seda (P)	50
Figura 32 – Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 160 (Q)	50
Figura 33 – Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 200 (R)	51
Figura 34 – Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 300 (S)	51
Figura 35 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + compressa absorvente (T)	52
Figura 36 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + náotecido 50 (U)	52
Figura 37 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + base de algodão (V)	52
Figura 38 – Membrana de quitosana 3% bicamada (estufa + liofilização) (W)	52
Figura 39 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 20 (X)	53
Figura 40 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 80 (Y)	53
Figura 41 – Membrana de quitosana 3% com suporte de quitosana + náotecido 20 (Z)	53
Figura 42 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 20 nas duas superfícies (AB)	53
Figura 43 – Membrana de quitosana 3% com poliéster (AC)	54
Figura 44 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de compressa absorvente (AD)	54
Figura 45 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de musselina 20 (AE)	54
Figura 46 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de musselina 80 (AF)	55
Figura 47 – Membrana de quitosana 2% + poliéster (AG)	
Figura 48 – Membrana de quitosana 2% + poliéster + musselini 20 (AH)	55
Figura 49 – Membrana de quitosana 2% + 2 camadas de musselina 80 (AI)	55
Figura 50 – Membranas de quitosana 1% + poliéster (AJ)	56
Figura 51 – Membrana de quitosana 1,5% + colágeno 1,5% + náotecido 20, seca por liofilização (AK)	56
Figura 52 – Membrana de quitosana 1,5% + colágeno 1,5% + náotecido 80 seca por liofilização (AL)	56

Figura 53 – Membrana de quitosana 1% + papaína 1% + poliéster (AM)	57
Figura 54 – Membrana de quitosana com cinamaldeído + poliéster (AN)	57
Figura 55 – Membrana de quitosana 1% + fibra de seda 0,5% + poliéster (AO)	57
Figura 56 – Membrana de quitosana 1% sem suporte (AP)	58
Figura 57 – Membrana de quitosana 2% sem suporte (AQ)	58
Figura 58 – Membrana de quitosana 3% sem suporte (AR)	58
Figura 59 – Teste de retenção de líquidos das melhores membranas de quitosana associadas a diferentes suportes mecânicos.	60
Figura 60 – Fotomicrografia da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	62
Figura 61 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	62
Figura 62 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	63
Figura 63 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	63
Figura 64 – Fotomicrografia da superfície superior da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	63
Figura 65 – Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	64
Figura 66 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	64
Figura 67 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	64
Figura 68 – Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	65
Figura 69 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	65
Figura 70 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	66
Figura 71 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	66
Figura 72 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% sem	

suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	67
Figura 73 – Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 2% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	67
Figura 74 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	67
Figura 75 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X.	68
Figura 76 – Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.	68
Figura 77 – Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.	68

Tabela 1: Sais utilizados nas câmaras de saturação a 20° C	35
Tabela 2: Listagem das membranas de quitosana	38
Tabela 3: Preços dos curativos encontrados no mercado	69
Tabela 4: Preço da quitosana para o preparo de 1,0 m ² de membrana	70

A úlcera de pressão é um ferimento que acomete grande número de pessoas hospitalizadas, incapacitadas de movimentação e os idosos. As alterações fisiológicas do envelhecimento seja no sistema cardiocirculatório, respiratório, renal ou no próprio sistema nervoso central, são as responsáveis pela maior predisposição dos idosos a complicações durante a hospitalização. A idade avançada é um dos fatores importantes no desenvolvimento da úlcera de pressão, pois ocorrem muitas mudanças, como o achatamento da junção entre a derme e a epiderme, menor troca de nutrientes, menor resistência à força de cisalhamento, diminuição da capacidade de redistribuir a carga mecânica da pressão. A úlcera de pressão pode ser definida como uma área localizada de necrose celular que tende a se desenvolver quando o tecido mole é comprimido entre uma proeminência óssea e uma superfície dura por um período prolongado de tempo. O tratamento para esse problema é difícil devido ao custo, ao tempo necessário para a cicatrização, aos constantes cuidados e deve proteger a ferida, ser biocompatível e fornecer uma hidratação ideal. Os biomateriais, entre eles, a quitosana apresenta características próprias para um curativo numa lesão grave. O objetivo desse trabalho foi preparar um curativo à base de quitosana que apresente propriedades adequadas ao tratamento de ferimentos relacionados à lesão de pele. O curativo foi obtido a partir da solução de quitosana, um polímero proveniente da quitina, que é encontrada principalmente em cascas de camarões, lagostas e insetos, sendo seco em estufa ou liofilizado, com ou sem suporte mecânico, em diferentes concentrações (1, 2, 3 e 6%), e em associação com outras substâncias. As membranas com melhores características mecânicas foram aquelas secas por liofilização, com suporte mecânico. Dessas, a que teve uma maior absorção de solução fisiológica 0,9% foi a membrana de quitosana a 1%, liofilizada com poliéster, que apresentou também, a melhor característica física sensorial e melhor preço. A fotomicrografia mostrou que as membranas com maior retenção de líquido apresentaram os maiores poros. Foi obtido, assim, curativos com as qualidades propostas no presente trabalho.

Abstract

The pressure ulcer is a wound that commits a great number of hospitalized people, people disabled of movement and the elders. The main important factors that contribute to the elder's predisposition to clinical complications are physiological alterations in the aging process involving the cardiovascular system, respiratory, renal or even in the central nervous system. The advanced age is one of the important factors in the development of the pressure ulcer therefore many changes may occur such as dermis and epidermis junction flattening, nutrients decrease exchange, shear force decrease resistance and reduction of the capacity to redistribute the pressure mechanical load. The pressure ulcer may be defined as a cellular necrosis area that tends to develop when the soft skin tissue is compressed over a bony prominence over a long period of time. The main reasons the treatment is so difficult are as follows: time necessary for scarifying process, constant care and wound protection, must be biocompatible and must provide ideal moisturizing. Biomaterials such as chitosan, presents optimal characteristics for a curative in acute lesions. In this present work the objective was the development of a chitosan made of curative that had adequate properties for treatment of skin lesion related wounds. The curative was obtained from a chitosan solution which is a polymer obtained from chitin (which is commonly found in shrimp, lobsters and insect shells) and can be both heat-dried or lyophilized, with or without mechanical support structure, in different solutions concentrations (1, 2, 3 and 6%) and also in association with other substances. The membranes with the best mechanical characteristics were those dried by lyophilization and with mechanical support structure. In this group the one that had the best physiological solution 0,9% absorption was the chitosan 1% lyophilized with polyester that also presented the best physical-sensorial characteristics and best price. The photomicrography showed that membranes with greater liquid retention presented the best pore size. This way, curatives were then obtained with the qualities proposed by this present work.

Introdução e Revisão Bibliográfica

1 – Introdução e Revisão Bibliográfica

A úlcera de pressão pode ser definida como uma pressão exercida por uma força perpendicular à pele, resultante da ação da gravidade, que ocasiona a oclusão do fluxo sanguíneo do paciente que fica em uma mesma posição no leito. A pressão maior que 25 mm Hg oclui o fluxo sanguíneo dos capilares dos tecidos moles, causando hipóxia que, se não for avaliada a tempo, evolui para eventual necrose (POTTER & PERRY, 1996; CAMPEDELLI & GAIDZINSKI, 1987; apud ANGARTEN & SANTOS, 1980; apud BARBOSA & SILVA, 1994; HOOD & DINCHER, 1995; BLACK & MATASSARIN-JACOBS, 1996; DEALEY, 1996; TIAGO, 1996).

A úlcera de pressão, um dos principais exemplos de integridade da pele prejudicada, representa uma ameaça direta para o indivíduo, causando desconforto, prolongamento da doença, demora na reabilitação e na alta hospitalar, podendo até causar morte por septicemia. A úlcera dá origem a uma perda notável de proteínas orgânicas, fluidos e eletrólitos, originando uma debilidade progressiva e podendo permitir, ao longo do tempo, a entrada de organismos infecciosos como *Pseudomonas aeruginosas*, estreptococos, estafilococos, *Escherichia coli*, localmente e sistemicamente (KELLY, 1985; REDDY, 1986; SMELTZER & BARE, 1994).

Todavia, a maioria dos fatores intrínsecos é difícil de ser controlado, em consequência, não é surpreendente que os fatores extrínsecos formem a base das estratégias tradicionais de prevenção, sendo a duração e a intensidade da pressão, controladas pelas mudanças de posição do doente e recorrendo a colchões especiais de alívio de pressão (SCOTT e col., 1999).

As úlceras de pressão requerem curativos para manter a sua integridade fisiológica; um curativo ideal deve proteger a ferida, ser biocompatível e fornecer uma hidratação ideal (BERGSTROM, 1994). Para otimizar a reabilitação de lesões, pode-se utilizar biomateriais, compreendidos como materiais interativos capazes de estabelecer uma afinidade apropriada com o tecido vizinho sem indução de uma resposta adversa do hospedeiro. Os polissacarídeos estimulam o sistema imune *in vitro* e *in vivo* e contribuem favoravelmente no processo cicatricial, podendo ser utilizados como biomateriais (SCHIRATO *et al.*, 2006).

A quitosana é um polímero natural e apresenta propriedades biológicas biocompatíveis, não-tóxicas e biodegradáveis. Absorve líquidos, forma filmes protetores e está sendo usada como curativos (acelerando a cicatrização das feridas). É ainda, agente hemostático, hipocolesterolêmico, e ainda, pode ser útil em sistemas de liberação de fármacos.

Este polímero é um biomaterial bastante versátil, podendo ser usado em pó, filme, fibras, géis, soluções, pasta e em objetos a serem moldados. O colágeno, assim como a quitosana, está sendo bastante utilizado na medicina e na odontologia devido às suas inúmeras propriedades biológicas (VIDIK & VUUST, 1980; TARAVEL & DOMARD, 1999).

A quitosana é um copolímero constituído de β -(1-4)-2-acetamida-2-deoxi-D-glicopiranoose, proveniente da reação de desacetilação da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza.

As blendas poliméricas constituem-se na mistura de pelo menos dois polímeros ou copolímeros sem que haja qualquer reação química entre eles (THOMAS & SPERLING, 1978). O interesse nesta área deve-se às crescentes aplicações práticas destes novos materiais e os principais estudos são voltados para a melhoria de suas propriedades físicas, físico-químicas e de processamento destes materiais, comparadas às propriedades dos polímeros puros (UTRACKI, 1990).

Muitas blendas formadas pela combinação de biopolímeros, têm grande importância na área de biomateriais, sendo que é possível juntar as propriedades individuais de cada material em um só, além da possibilidade de melhorar ou controlar as suas propriedades mecânicas e biológicas através da interação entre as suas estruturas químicas diferentes. Membranas e hidrogéis provenientes da mistura de colágeno e quitosana foram investigados pelas suas aplicações potenciais no campo dos biomateriais (THACHARODI & RAO, 1995).

1.1 – Lesões crônicas

O termo *lesão* ou *ferida crônica* descreve geralmente uma solução de continuidade ou ulceração de pele, que existe já por longo período de tempo ou que ocorre freqüentemente.

Nos Estados Unidos da América são relatados que anualmente cerca de três milhões de pessoas encaram o sério problema das lesões crônicas de pele, que causam dor, perda funcional e obrigam pessoas a mudarem seu estilo de vida, em virtude da perda ou diminuição de mobilidade. Provocam enorme prejuízo social ocasionado pela queda da produtividade e custos dos cuidados à saúde (WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES, 2000).

As lesões são chamadas de crônicas devido ao fato de não se fecharem ou cicatrizarem em um esperado período de tempo. Elas rompem a integridade da pele, seja por perfuração, corte, esgarçamento ou trauma do tecido. As causas podem ser estruturais, tais como ferimentos, ou fisiológicas, quando ocasionadas por alguma doença adjacente.

As lesões crônicas são hoje, uma das mais sérias preocupações da saúde pública, com expressiva morbidade e também se constituem em fonte de frustração, tanto para profissionais de saúde como para pacientes, uma vez que novas propostas de tratamento são apresentadas e, sucessivamente, falham, impondo a estes indivíduos a necessidade da adesão complacente, desafio que se mostra cada dia maior e mais sofrido (WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES, 2000). As lesões crônicas de pele mais freqüentes são as úlceras venosas de estase, as úlceras de pressão e as úlceras diabéticas.

1.1.1 - Úlcera venosa de estase

O tornozelo e a porção inferior da perna (Figura 1, Figura 2) são geralmente os locais mais acometidos pela doença. Nos indivíduos portadores, o fluxo sanguíneo das extremidades inferiores encontra-se comprometido, levando a edema, eritema, descamação da pele, a qual evolui gradativamente para a ulceração (WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES, 2000).

Figura 1 – Lesão crônica de estase (DERMATOLOGY IMAGE ATLAS)

Figura 2 - Estase venosa: diferentes estágios evolutivos (DERMATOLOGY IMAGE ATLAS)

1.1.2 - Úlcera diabética

É um ferimento crônico do pé que ocorre em pacientes diabéticos. Enquanto a causa da úlcera seja um ferimento inicial como um calo ou corpo estranho, é a doença subjacente que o coloca sob maior risco de desenvolver a úlcera. A inadequada irrigação local que dificulta o processo de reparação tecidual e defesa, assim como a diminuição da sensibilidade das extremidades, o que muitas vezes faz com que o ferimento inicial passe despercebido até que se torne uma lesão séria crônica, estão entre os principais fatores de risco. Essas lesões afetam cerca de 500.000 pacientes nos EUA e 1,2 milhões de pessoas no restante dos países (WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES, 2000).

Um dos maiores medos do paciente diabético é a perda total ou parcial do seu membro inferior, por amputação. Esse medo é bem fundamentado, pois de 50% a 75% das amputações não traumáticas dos membros inferiores são relacionadas às complicações da diabetes, com aproximadamente 35.000 amputações maiores (acima do tornozelo) ocorrendo anualmente nos Estados Unidos. A infecção no pé é a causa mais comum de hospitalização do paciente diabético, dentre todas as complicações da doença, sendo responsável por 25% das internações totais (cerca de 200.000 internações/ano) (ROSSI e col., 2005).

1.1.3 - Úlcera de pressão

A úlcera de pressão é definida como uma ferida causada por incessante pressão ou fricção repetida que danifica a pele e a arquitetura subjacente (Figura 3) (CANNON, 2004). Outros termos freqüentemente usados são úlceras de decúbito, escara, escara de decúbito, porém, por ser a pressão o agente principal para a sua formação, o termo mais adequado é úlcera de pressão. O termo escara deve ser utilizado para designar a parte necrótica ou crosta da ferida e não como seu sinônimo. A úlcera de pressão afeta, nos EUA, cerca de 1,6 milhões de pessoas e 4,1 milhões no restante do mundo (WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES, 2000).

Figura 3 - Diagrama demonstrando a pressão exercida na região de uma proeminência óssea .

A investigação primária dos pacientes com fatores de risco é necessária para a prevenção da úlcera de pressão. Os pacientes com fatores de risco são aqueles que apresentam idade avançada, imobilidade, incontinência, doença catabólica, pressão em proeminência óssea e força de cisalhamento (PENDER & FRAZIER, 2004).

Criticamente pacientes enfermos estão susceptíveis ao desenvolvimento de feridas devido à imobilidade e frequentemente expostos a fatores de riscos associados com o desenvolvimento da úlcera de pressão (THEAKER e col., 2005).

Os mecanismos que conduzem à ruptura tecidual não são muito claros devido à limitação da investigação nesta área, mas existem pelo menos três processos fisiopatológicos evidentes: oclusão do fluxo sanguíneo e subsequente dano por reperfusão abrupta do leito vascular isquêmico; dano endotelial das arteríolas e da micro-circulação devido a aplicação de forças de deslizamento e fricção; e direta oclusão dos vasos sanguíneos devido a aplicação de pressão externa por longos períodos, resultando em morte celular. Os diferentes tipos de mecanismos de ruptura tecidual dão origem a úlceras com diferentes apresentações (FURTADO, 2003).

A incidência das úlceras de pressão leva a uma piora do quadro geral do paciente, aumentando o tempo de internação e mortalidade, causando dor, risco de infecção, maior necessidade orgânica para cicatrização, além de maior custo para o hospital (COELHO & SILVA, 2004).

A porcentagem de úlcera de pressão em pacientes internados na unidade de terapia intensiva (UTI) está entre 3 e 29%, podendo ser desenvolvida durante a primeira semana de internação, causando, segundo a National Health Service, um aumento gradual no custo do tratamento e prevenção de úlceras de pressão (PENDER & FRAZIER, 2004; THEAKER e col., 2005). Mais de um milhão e meio de pacientes hospitalizados desenvolvem úlceras de pressão anualmente, aumentando o custo da hospitalização em U\$15.229 e prolongando a internação dos pacientes em 8.2 dias (PENDER & FRAZIER, 2004).

Os pacientes necessitam de atenção especial da enfermagem para que seja feito curativo e a mudança de decúbito; dos médicos para que se faça debridamento quando necessário e medicação; do fisioterapeuta para trabalho motor, e do nutricionista, visto que de acordo com GREEN e col., a incidência de úlcera de pressão muitas vezes está

relacionada com uma má nutrição e estado nutricional do paciente. O processo de cicatrização é mediado por uma série de fatores, principalmente vários nutrientes como carboidratos, lipídeos, proteínas, vitamina A, C, E, do complexo B, zinco, ferro, cobre, cálcio e magnésio (COELHO & SILVA, 2004).

A úlcera de pressão causa além da dor, uma resposta inflamatória com hiperemia (excesso da quantidade de sangue no órgão), febre, e leucocitose (PENDER & FRAZIER, 2004).

1.2 - Fisiologia do processo cicatricial

Compreender o processo cicatricial é de grande importância para a avaliação evolutiva da ferida porque os produtos para o tratamento de uma ferida podem variar de acordo com a fase do processo cicatricial.

A lesão tissular estimula imediatamente uma série de processos metabólicos, visando o restabelecimento dos tecidos lesados (CENTRE FOR MEDICAL EDUCATION, 1994; ROBBINS e col. 1994). Quando não há perda de tecido ou se esta não foi significativa, há possibilidade de se aproximar os bordos da ferida e o processo de reparação tecidual necessário será mínimo (CENTRE FOR MEDICAL EDUCATION, 1994; CRUSE & PHEDRAN, 1991). Entretanto, se a área de lesão ou a perda de tecido for extensa, as diversas fases do processo cicatricial serão nitidamente diferenciadas e o processo de reparação será mais lento. Em quaisquer circunstâncias o processo pode ser retardado pela presença de fatores adversos (CENTRE FOR MEDICAL EDUCATION, 1994; DAVIDSON, 1995).

Como desencadeante da cicatrização, ocorre uma perda tecidual, a partir da qual a fisiologia do organismo volta-se completamente para o reparo de um evento danoso. A perda tecidual pode atingir a derme completa ou incompletamente, ou mesmo atingir todo o órgão, chegando ao tecido celular subcutâneo. É daí que vem a definição do tipo de lesão: 1- de espessura parcial (derme incompleta) e 2- de espessura total (derme completa ou estendida ao tecido celular subcutâneo) (MANDELBAUM, 2003).

A lesão de espessura parcial ocorre após muitos procedimentos dermatológicos como a dermoabrasão, o *resurfacing por laser* ou *peelings* químicos; pode também ser causadas por traumatismos. A reparação faz-se pela *reepitelização dos anexos*

epiteliais ou epitélio derivado da pele adjacente não acometida. Como resultado final tem-se uma cicatriz praticamente imperceptível.

Na lesão de espessura total, necessita da formação de um novo tecido, *o tecido de granulação*. A epitelização, base da cicatrização nas feridas de espessura parcial acontece apenas nas margens da ferida. Nesse caso, a cicatriz é totalmente perceptível e, muitas vezes, pronunciada (MANDELBAUM, 2003).

Qualquer tipo de cicatrização depende de vários fatores, locais e gerais, como: localização anatômica, tipo da pele, raça, técnica cirúrgica utilizada, estado nutricional dentre outros. A cicatrização em uma mesma espécie varia se a ferida ocorre no feto, no recém-nascido ou no indivíduo adulto (MANDELBAUM, 2003). Inclui diversos processos, como coagulação, inflamação, depósito de substâncias e síntese de matriz, a *angiogênese* (formação de novos vasos sanguíneos), fibroplasia, a epitelização, a retração da lesão e remodelação. A sobreposição desses complexos processos é mais facilmente compreendida quando organizada em fases (SAMPAIO, 2002; DERMATOLOGY IMAGE ATLAS; MANDELBAUM, 2003).

A cicatrização ocorre em três fases diferenciadas e que se sobrepõem (CENTRE FOR MEDICAL EDUCATION, 1994; ROBBINS e col., 1994). São elas: **A- Fase exsudativa ou inflamatória; B- Fase proliferativa e C- Fase de maturação.**

A fase **exsudativa ou inflamatória (A)** tem as funções de ativar o sistema de coagulação, promover o debridamento da ferida e a defesa contra microrganismos. Esta fase é composta por 3 outras fases que acontecem quase que simultaneamente. São elas: a fase **trombocítica**, a **granulocítica** e a **macrofágica**.

A fase **trombocítica** envolve a hemostasia que é a primeira resposta à lesão e se caracteriza pela vasoconstrição. Os trombócitos são responsáveis pela agregação plaquetária e ativação da cascata de coagulação.

Na fase **granulocítica**, os granulócitos liberam enzimas proteolíticas mediadoras (colagenases, elastases e hidrolases ácidas); há aumento do fluxo sanguíneo (vasodilatação); perda de líquidos, proteínas e células dos capilares devido ao aumento da permeabilidade capilar (produção de exsudato); ocorre a quimiotaxia (atração dos fagócitos pelos mediadores, primeiro neutrófilo e depois macrófagos) e a fagocitose (os neutrófilos e macrófagos digerem as bactérias e restos celulares).

Na fase **macrofágica** há o início da reparação, onde os macrófagos secretam proteases, fatores de crescimento e substâncias vasoativas que dão continuidade ao processo de debridamento e exercem a função de controle central das fases de cicatrização subseqüentes.

Na fase **proliferativa (B)**, ocorre a **granulação**, a **epitelização** e a **contração**. A fase de **granulação** é caracterizada pela formação de um tecido novo (tecido de granulação) composto de capilares, colágeno e proteoglicanas. A formação neocapilar nesta fase, resulta da liberação de fatores angiogênicos secretados pelos macrófagos, que estimulam a proliferação das células endoteliais dos vasos sangüíneos. Nesta fase há a produção de colágeno pelos fibroblastos. Na fase de **epitelização**, as principais prioridades é a formação de um tecido conjuntivo novo e epitelização. Ela caracteriza-se pela redução da capilarização e aumento do colágeno. As principais características da epitelização são a migração e divisão mitótica das células basais iniciando nas bordas da ferida. Durante o processo de maturação do epitélio as células basais se dividem e se deslocam para cima. Já na fase de **contração**, há redução do tamanho da lesão pela ação especializada dos fibroblastos. A contração é o movimento centrípeto das bordas da ferida (espessura total). As feridas de espessura parcial não contam com essa fase. Uma ferida de espessura total tem contração mesmo quando há enxertos, que diminuem em 20% o tamanho da ferida. Em cicatrizes por segunda intenção, a contração pode reduzir 62% da área de superfície do defeito cutâneo (GENTILHOMME e col., 1999).

Na fase de **maturação (C)**, ocorre a remodelação do colágeno e redução da capilarização onde a cicatriz torna-se mais clara e plana. A remodelação é a última fase e ocorre no colágeno e na matriz, durando meses e é responsável pelo aumento da força de tensão e pela diminuição do tamanho da cicatriz e do eritema. Reformulações dos colágenos, melhoria nos componentes das fibras colágenas, reabsorção de água são eventos que permitem uma conexão que aumenta a força da cicatriz e diminui sua espessura (GENTILHOMME e col., 1999). A neovasculatura diminui e tardiamente a cicatriz é considerada avascular. Uma cicatrização normal tem aproximadamente 80% da força de tensão da pele normal, não é volumosa e é plana.

Muitas variáveis tanto de ordem geral como de ordem local influenciam este longo e complexo processo. A idade, o estado nutricional, existência de doenças de base como diabetes, alterações cardiocirculatórias e de coagulação, aterosclerose, disfunção renal, quadros infecciosos sistêmicos e uso de drogas sistêmicas servem de exemplos de ordem geral. Dos fatores locais, interfere a técnica cirúrgica, formação de hematomas, infecção, reação de corpo estranho, uso de drogas tópicas, ressecamento durante a cicatrização. Popularmente há a crença de que “ferida seca cura mais rápido”. Pesquisas clínicas mostram que as feridas abertas formam crostas e epitelizam mais lentamente). Inúmeros curativos são então utilizados para produzir umidade local, melhorando de 35% a 45% a taxa de reepitelização de feridas profundas (GENTILHOMME e col., 1999).

1.3 - Tratamentos

O tratamento das lesões crônicas é variável em função da gravidade do quadro, podendo ir desde 1- coberturas simples e debridamento (químico ou cirúrgico, para eliminar o tecido necrótico ou morto, do local) a 2- extensas cirurgias, passando por diversos produtos voltados para os pacientes portadores de lesões parciais ou semi-profundas, sendo esta última, a maior categoria desta área.

1.3.1 - Coberturas

As coberturas também são denominadas de curativos e correspondem a outro princípio importante da terapia tópica de feridas, inseridas com função de oclusão, após a limpeza e debridamento. Este termo, no entanto, não é o mais adequado, pois segundo SANTOS (2000), engloba a técnica de “curar”, ou seja, os procedimentos que vão da remoção da cobertura anterior, limpeza, debridamento e colocação da nova cobertura.

Todo rigor de higiene deve ser usado para se fazer a cobertura, inclusive o uso de gorro e máscara (FIGUEIREDO, 2003).

Algumas características mais apropriadas da cobertura, visando manutenção do ambiente propício à reparação tecidual, foram citadas por DEALEY (1996). São eles: preservar a umidade na interface ferida/cobertura, remover o excesso de exsudato,

permitir as trocas gasosas, promover isolamento térmico, proporcionar proteção contra infecção, ser isento de partículas e contaminantes e permitir a remoção sem causar traumas. A disponibilidade destas coberturas no mercado, flexibilidade, facilidade de manuseio, custo e eficácia, também são fatores que devem ser considerados segundo o mesmo autor.

A preservação do meio úmido obtido pelas coberturas, mantém as células viáveis e permitem que elas liberem fatores de crescimento estimulando sua proliferação (FIELD e KERSTEIN, 1994). WINTER (1962) demonstrou em seu estudo que a reepitelização em feridas em meio úmido é mais rápida do que as que permanecem em meio seco.

As coberturas podem ser classificadas como primária (aquelas que permanecem em contato direto com a lesão) e secundária (aquelas que ficam sobre a cobertura primária, podendo ser gazes, chumaços, entre outros) (BLANES, 2004). A seguir serão descritos alguns produtos disponíveis no mercado de acordo com o mesmo trabalho.

1.3.1.1 - Filme de Poliuretano

Esta cobertura estéril é composta por filme transparente de poliuretano com espessura de 0,2 mm. É semi-permeável, uma vez que permite a passagem de gases como oxigênio e gás carbônico, mas impede a de líquidos e bactérias. Apresenta vantagem devido a sua transparência, permitindo a inspeção contínua da ferida ou a visualização da inserção de catéteres; outra vantagem reside na sua capacidade de adaptação a áreas de contorno do corpo devido a sua propriedade elastomérica e distensível. O polímero é constituído de adesivo acrílico hipoalergênico, permitindo aderência somente à pele íntegra e não aderindo à superfície úmida, evitando o trauma durante a sua retirada (SANTOS, 2000; GOMES e BORGES, 2001; BLANES, 2003).

São indicadas para tratamento de feridas superficiais minimamente exsudativas, sendo benéfico para áreas doadoras de enxertos cutâneos com baixa exsudação; proteção de feridas cirúrgicas sem complicações, prevenção de lesões de pele por umidade excessiva ou atrito, como ocorrem em casos de úlcera por pressão e lacerações (BLANES, 2003). A cobertura deve ser avaliada diariamente, podendo permanecer no local por tempo indeterminado quando em uso profilático de lesões de

pele, e deve ser trocada quando houver acúmulo de exsudato ou deslocamento do mesmo (EAGLSTEIN, 2001; LIONELLI e LAWRENCE, 2003; BLANES, 2003).

1.3.1.2 - Hidrogel

Este material é um gel transparente, formado por redes tridimensionais de polímeros e copolímeros hidrofílicos compostos em sua maioria de água (78-96%), uretanos, polivinil pirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (SANTOS, 2000; GOMES e BORGES, 2001). Está disponível em forma de placa e gel e requer a utilização de cobertura secundária.

Devido a sua elevada umidade, evita a desidratação das terminações nervosas reduzindo significativamente a dor, dando uma sensação refrescante. O ambiente proporcionado pelo produto auxilia na autólise, uma vez que amolece e hidrata tecidos desvitalizados, facilitando sua remoção. Em feridas livres de tecidos desvitalizados, propicia o meio ideal para a reparação tecidual (BLANES, 2004).

A indicação é para feridas com perda tecidual parcial ou profunda, feridas com tecido necrótico, áreas doadoras de pele, queimaduras de primeiro e segundo grau, dermoabrasões e úlceras (GOMES e BORGES, 2001).

Devido à reduzida capacidade de absorção, é contra-indicada em feridas exsudativas. As trocas devem ser realizadas no período de 1 a 3 dias (BLANES, 2004).

1.3.1.3 - Hidrocolóide

A cobertura de hidrocolóide surgiu na década de 80 e é específico para úlceras crônicas. É uma evolução do curativo comum de gaze e esparadrapo (DEALY, 1996). Estas coberturas são constituídas por base hidrocolóide composta de pectinas, carboximetilcelulose sódica e gelatina, e de um revestimento feito de poliuretano.

Deve ser aplicado apenas em úlceras livres de processo infeccioso e a sua borda deve ultrapassar 2 cm da borda da úlcera, podendo permanecer em torno de 1 a 7 dias quando são facilmente trocados. Surgindo uma secreção gelatinosa marrom amarelada de odor característico, não deve ser confundida com pus, pois é o exsudato da própria lesão mesclado com o hidrocolóide. Funciona como uma barreira bacteriana, protegendo a ferida (FIGUEIREDO, 2003).

1.3.1.4 - Papaína

Nos últimos anos, as enzimas proteolíticas têm atraído muita atenção de pesquisadores e profissionais da área da saúde, no que tange ao processo reparativo de tecidos danificados e seu efeito na retirada de tecidos necróticos, desvitalizados e infectados da lesão (UDOD e STOROJUK, 1981; MONETTA, 1987; ROGENSKI e col., 1998).

A papaína vem sendo utilizada há algum tempo em estudos clínicos, com resultados favoráveis. É uma substância de origem vegetal, extraída da *Carica papaya* que é solúvel em água e glicerol, mas praticamente insolúvel no álcool, éter e clorofórmio. Por ser uma enzima de fácil deterioração, deve ser mantida em lugar fresco, seco, ventilado e protegido da luz (SANCHES e col., 1993).

A solução de papaína a 2% é utilizada para promover a granulação e epiteliação da ferida, e a 10%, no desbridamento de tecido desvitalizado (UDOD e STOROJUK, 1981; MONETTA, 1987; SANCHES e col., 1993; ROGENSKI e col., 1998; SILVA, 2003). Pode ser irritativa sobre a pele íntegra, sendo necessário trocas freqüentes de curativos, para evitar lesões na pele ao redor da ferida (UDOD e STOROJUK, 1981; SANCHES e col., 1993; ROGENSKI e col., 1998).

1.3.1.5 - Alginatos

Os alginatos são polissacarídeos derivados do ácido algínico obtidos principalmente de algas marinhas, dos gêneros *Laminaria* e *Macrocystis* (SIMÕES, 2004). É utilizado há algumas décadas devido a suas propriedades hemostáticas.

O gel solúvel de alginato de sódio é um produto da interação química entre o sódio do exsudato com o cálcio do alginato (troca iônica) e que não adere à ferida. A geração do íon livre de cálcio amplifica a cascata de coagulação conferindo propriedade hemostática (SANTOS, 2000; EAGLSTEIN, 2001; GOMES e BORGES, 2001).

É indicado para feridas exsudativas, uma vez que o exsudato é necessário para transformar o alginato em gel (BLANES, 2004), ou para feridas muito infectadas (FIGUEIREDO, 2003). Este polissacarídeo é utilizado também para tratamento de feridas de espessura total, como deiscência de feridas cirúrgicas, úlceras, etc (BLANES, 2004).

Comercialmente, é apresentado na forma de placa ou em fita. É de fácil aplicação, com vantagem de permitir ser repartido para se moldar ao tamanho da ferida, porém deve ser bem avaliado quanto sua indicação por ter custo elevado. É classificado como cobertura primária, sendo necessária uma cobertura secundária.

O produto deve ser trocado apenas quando estiver bem saturado (SANTOS, 2000; BORGES e col., 2001). O gel emite um odor forte e tem aparência purulenta que não deve ser confundido com infecção (BLANES, 2004). Havendo a granulação da ferida, deve ser substituído por curativo hidrocolóide (FIGUEIREDO, 2003).

1.3.1.6 - Carvão ativado

Consiste em uma cobertura estéril, composta de tecido de carvão ativado impregnado com prata, envolvido externamente por invólucro de tecido não-poroso feito de fibras de náilon, selado em toda sua extensão. É produzido pela carbonização do raio de viscose. Possui um sistema de poros no tecido capaz de reter bactérias, que são inativadas pela ação da prata, diminuindo a contagem bacteriana e, conseqüentemente odores desagradáveis.

Assim como os alginatos, é uma cobertura primária e requer cobertura secundária, sendo usualmente com gazes, que deve ser trocada diariamente ou mais de uma vez ao dia; o carvão deve ser trocado assim que atingir o ponto de saturação (SANTOS, 2000; GOMES e BORGES, 2001; BAJAY e col., 2003).

É indicado para feridas infectadas ou não, deiscências cirúrgicas, úlceras vasculogênicas, feridas fúngicas, neoplásicas, úlceras por pressão e aquelas com drenagem de exsudato moderado ou abundante (WINTER, 1962; BAJAY e col., 2003).

É contra-indicado em feridas secas e recobertas por escara. Em lesões com pouco exsudato, o carvão ativado pode aderir e causar sangramento durante sua remoção, principalmente nas áreas com tecido de granulação. Não deve ser cortado, pois tem risco de dispersão de partículas de carbono no leito da ferida que atuarão como corpos estranhos (DEALEY, 1996; SANTOS, 2000; GOMES e BORGES, 2001).

1.3.1.7 - Sacarose

O curativo com sacarose é indicado (THOMAZ, 1997) em úlceras e feridas com grande exsudação, pois o açúcar reduz a disponibilidade de água, inibindo o crescimento bacteriano, diminuindo o odor desagradável nas infecções por anaeróbios e promovendo o desbridamento do tecido necrótico na lesão. Deve ser feito duas vezes ao dia e tem grande vantagem em relação ao custo (FIGUEIREDO, 2003).

1.3.1.8 - Curativos impregnados com PVP-iodo

São curativos impregnados com povidine a 10%. De amplo espectro bacteriano e ação prolongada, são indicados em feridas infectadas, com baixa exsudação, não devendo ser usadas por mais de quatro vezes e necessitando de curativo secundário (FIGUEIREDO, 2003).

1.3.2 - Tratamento cirúrgico

1.3.2.1 - Enxerto de pele

É feito com anestesia local ou bloqueio, sendo uma boa opção terapêutica para úlceras grandes em granulação e sem processo infeccioso, pois encurta o tempo de epitelização (FIGUEIREDO, 2003).

O enxerto pode ser com pele total ou parcial e puntiforme, em forma de malha de rede, que segundo FALANGA (1996), é o que dá melhor resultado nas úlceras de perna, pois permite a drenagem do exsudato oriundo da lesão.

Os produtos de pele artificial são alternativas, de alto custo, as quais requerem geralmente cuidados especiais de armazenamento e manutenção, tornando sua utilização pouco prática e exequível em nosso meio (GENTILHOMME e col., 1999).

1.4 - Características gerais da quitina e da quitosana

O polímero quitina (Figura 4) foi descoberto primeiramente em cogumelos pelo professor francês Henri Braconnot, em 1811, recebendo então a denominação inicial de fungina. O nome quitina foi dado por Odier, em 1823, quando esta foi isolada de insetos e somente em 1843, Payen descobriu que a quitina continha nitrogênio em sua estrutura química (KNORR, 1991; ROBERTS, 1992).

A quitina é a precursora direta da quitosana (Figura 5). É a denominação usual para o polímero constituído por uma seqüência linear de açúcares monoméricos β -(1-4) 2-acetamido-2-deoxi-D-glicose (N-acetilglicosamina), unidos por ligações glicosídicas que se arranjam em alfa hélice estabilizadas por pontes de hidrogênio intramoleculares (SINGLA e col., 2001).

Apresenta estrutura semelhante à fibra vegetal celulose (Figura 6). A diferença estrutural entre as duas fibras se deve aos grupos hidroxilas localizados na posição 2, que na quitina foram substituídos por grupos acetamino.

Figura 4: Estrutura química da quitina

Figura 5: Estrutura química da quitosana

Figura 6: Estrutura química da celulose

É o polissacarídeo natural mais comum após a celulose (DEE e col., 2001; SINGLA e col., 2001) e faz parte tanto do exoesqueleto como do endoesqueleto de artrópodes, juntamente com proteínas, lipídeos, sais minerais (carbonatos e fosfatos de cálcio) e alguns pigmentos, incluindo carotenóides (MANTHUR e col., 1990; DEE e col., 2001).

Os artrópodes não são os únicos seres a apresentarem quitina; microrganismos como algas verdes e marrons, esporos e leveduras também apresentam. Dentre os animais marinhos, as principais fontes são os camarões (variedades pequenas ou grandes), caranguejos e lagostas, embora possam estar presentes também em anelídeos, moluscos, celenterados e no krill. Este último é a fonte convencional de alimentação das baleias, cuja população tem aumentado exacerbadamente nas últimas décadas devido à matança indiscriminada do cetáceo. O krill tem se mostrado uma excelente fonte de proteínas e de quitina (MATHUR & NARANG, 1990; DEE e col., 2001).

A produção mundial anual de quitina proveniente de carapaças de crustáceos gira em torno de 50 mil toneladas, onde somente os EUA são responsáveis por aproximadamente 15 mil toneladas anuais (DEE e col., 2001). Escorpiões, aranhas, formigas, besouros entre outros insetos, apresentam a quitina em seus exoesqueletos, porém não são considerados fontes da mesma.

As paredes celulares de alguns fungos, como de *Mycelia penicillium* são consideradas também, por alguns pesquisadores como fontes potenciais futuras de quitina (MATHUR & NARANG, 1990).

A quitina constitui 1,4% da massa fresca dos insetos e 15 a 20% da massa seca de carapaças de crustáceos que apresentam ainda, 25 a 40% de proteínas e 40 a 55% de carbonato de cálcio. Apresenta grande variedade de usos, principalmente na indústria têxtil, alimentícia e de cosméticos, porém sua maior aplicação encontra-se na produção de quitosana, que se presta a inúmeras aplicações (MANTHUR & NARANG, 1990; DEE e col., 2001).

Os polímeros, quitina e quitosana são sintetizados biologicamente em um total anual de aproximadamente 1 bilhão de toneladas, sendo biodegradadas sem acúmulo excessivo na natureza, através do “ciclo da quitina” (Figura 7). As enzimas hidrolíticas

envolvidas nesse processo (lisoenzima, quitinase, quitina desacetilase e quitosanase) estão largamente distribuídas nos tecidos e fluidos corporais dos animais e vegetais, assim como no solo.

Figura 7: O ciclo da quitina (KNORR, 1991; ROBERTS, 1992).

A quitosana foi descoberta em 1859, pelo professor e pesquisador C. Rouget, quando o mesmo colocou em ebulição uma solução de hidróxido de potássio com quitina (ROBERTS, 1992; NIFANT'EV, 1988). É um polissacarídeo natural compreendendo copolímero de glicosamina e *N*-acetilglicosamina e pode ser obtida por desacetilação parcial (ILLUM, 1998; NUNTHANID, 2001) ou total da quitina em suspensões alcalinas (MANTHUR e col., 1990; DEE e col., 2001), oriunda de exoesqueleto de crustáceos (ILLUM, 1998; NUNTHANID, 2001).

A desacetilação da quitina produz quitosanas com grupos aminas livres, cuja porcentagem depende da metodologia empregada (CUROTTO e col., 1993).

De acordo com NO e col. (1995), este polissacarídeo pode ser preparado utilizando-se solução de hidróxido de sódio 50% em temperaturas elevadas (100-110 °C), por 5 horas, e que devido a essas condições promove reações de degradação da cadeia de quitina, removendo parte dos grupamentos acetila e liberando os

grupamentos amina. Estes últimos, segundo YOMOTA e col., 1993 e OTTOY e col., 1996, conferem à quitosana, natureza catiônica.

A desacetilação microbiológica, utilizando enzimas específicas ou microrganismos, representa uma opção de produção industrial de quitosana. (ROBERTS, 1992; NIFANT'EV, 1988). Vale ainda salientar que, em nível industrial, é importante um rígido controle das condições reacionais para se obter um polímero de cadeia longa e com grau de desacetilação na faixa desejada.

Percebe-se, portanto, que a quitosana não é um polímero regular, e sim, um composto constituído de grupos parcialmente desacetilados, possuindo desta forma, tanto monômeros acetilados como desacetilados em sua cadeia. Assim, se denomina quitosanas, as quitinas com grau de desacetilação de 30% a 98%, sendo que as aplicações e características da substância formada dependem fundamentalmente deste grau assim como do tamanho da cadeia (DEE e col., 2001; SINGLA e col., 2001).

O polímero de quitosana é solúvel em meio ácido diluído, tornando a aplicação, mais favorável que a quitina (DUNG e col., 1994). Segundo esses mesmos autores, a quitosana apresenta outras inúmeras vantagens em relação aos polímeros sintéticos, dada ao fato de ser natural, biodegradável, renovável e não-tóxica. Sua estrutura apresenta alta densidade elétrica em solução, o que permite aderir a superfícies carregadas negativamente tendo a capacidade de quelar íons metálicos (LI e col., 1992).

Este polissacarídeo é carregado positivamente. A densidade elétrica permite que o mesmo forme complexos iônicos insolúveis ou coacervados complexos com uma variedade extensa de polímeros aniônicos solúveis em água (SUH & MATTHEW, 2000).

Uma vez que a densidade elétrica da quitosana é pH dependente, esta transfere esses complexos iônicos para o pH fisiológico podendo resultar em dissociação de uma porção de poliânion imobilizado.

Propriedades intrínsecas como pureza, viscosidade e grau de desacetilação, assim como características físicas, aplicadas à quitosana, influenciam na qualidade final e conseqüentemente, aplicação do produto (LI e col., 1992).

PETER em 1995, diferencia quitina da quitosana pelo critério de solubilidade em solução aquosa de ácido. Quando o polímero possui alto teor de grupos N-acetil (maior que 40%) distribuídos na cadeia polimérica, ele é normalmente insolúvel, sendo denominado de quitina; quando os mesmos grupos são menores que 40%, este polissacarídeo passa a ser solúvel em solução aquosa ácida, e então, recebe a denominação de quitosana.

As radiações gamma causam modificações nas propriedades físico-químicas das quitosanas (KUME & TAKEHISA, 1982). A viscosidade específica deste polímero muda significativamente com baixas doses de radiação, enquanto que a energia superficial da quitosana dificilmente muda a 100 kGy. Foi considerada que a irradiação é um método usado para produção de produtos de baixo peso molecular provenientes de carboidratos por degradação.

1.4.1 - Diferentes aplicações da quitina e da quitosana

Segundo HIRANO (1996), dentre várias aplicações biotecnológicas da quitina podem ser citadas algumas como: agentes catiônicos para tratamento de água; materiais para indústrias, têxtil, papel, filme e placas de esponjas; materiais agrícolas; materiais biomédicos e farmacêuticos; materiais para cicatrização de feridas; materiais anticoagulantes, antitrombogênicos e hemostáticos; alimentos e aditivos alimentares; agentes hipocolesterolêmicos; na composição de cosméticos; como cromatográficos e meios de imobilização e ainda, como reagentes analíticos.

A quitosana é um biopolímero que apresenta um grande potencial de desenvolvimento, devido ao fato de gerar inúmeros tipos de materiais com funções variadas, tendo aplicabilidade em vários setores da economia como indústria de medicamentos, cosmética, alimentícia e para fins de diagnóstico (OGAWA, 1973; MAGDASSI, 1990; ORNUM, 1992).

As principais propriedades da quitosana que fazem da mesma, uma importante substância de grande aplicação com finalidades biomédicas são a biocompatibilidade (BORCHARD & JUNGINGER, 2001; CHANDY & SHARMA, 1990), baixa toxicidade (KARLSEN & SKAUGRUD, 1991) pelo fato de sua degradação resultar em metabólitos naturais, capacidade de cicatrização de feridas, retenção de líquidos, formação de

filmes protetores flexíveis, coagulação sangüínea e redução do colesterol, demonstrada em experimentos animais.

Segundo SANFORD (1989), as quitosanas podem ser aplicadas em áreas biológicas como em suturas cirúrgicas por serem fibras biocompatíveis não-alergênicas, na manufatura de lentes de contato por apresentarem maiores vantagens em relação aos polímeros sintéticos proporcionando mais conforto e menor custo, maior capacidade de absorção de água e maior permeabilidade ao ar (obs. As lentes são feitas de quitosana e apresentam maior compatibilidade do que aquelas feitas por polímeros sintéticos).

A lisozima é a enzima responsável pela degradação da quitosana e está presente em tecidos, órgãos e fluidos corporais de mamíferos, inclusive no fluido lacrimal com teores acima de 1%, e os produtos da degradação enzimática da quitosana são oligômeros de n-acetil-D-glicosamina, que, além de apresentarem propriedades cicatrizantes, antimicrobianas, são totalmente absorvíveis pelo organismo. Essas importantes propriedades, associadas à excelente capacidade de formar filmes, fizeram da quitosana o biopolímero escolhido como substrato para o desenvolvimento de lentes de contato, para serem utilizadas como película ocular protetora na recuperação de tecidos submetidos a cirurgias intra-oculares ou em casos de comprometimentos crônicos da córnea (SANFORD,1989).

Na biotecnologia, a quitosana associada a agentes reticulantes como o glutaraldeído, formaldeído e glioxal constitui uma biomembrana artificial que imobiliza ("encapsula") enzimas e células por formar complexos com soluções de polímeros aniônicos, como os polifosfatos, alginatos e carragenanas (polissacarídeos de algas) e pectinas (polissacarídeo de vegetais superiores, presentes em abundância nos frutos cítricos) (SANFORD,1989).

Tem sido ainda, amplamente utilizadas como excipientes de formulações farmacêuticas (SINGLA & CHAWLA, 2001) em novos medicamentos de liberação lenta como mucoadesivas (LEHR e col., 1992), peptídeo (BERNKOP & KAST, 2001) e liberador de gene (BORCHARD, 2001); exibiu ainda, efeito hipocolesterolemizante, antimicrobiano e propriedades cicatrizantes (SINGLA & CHAWLA, 2001, UENO e col., 2001).

A quitosana é também conhecida como um polissacarídeo antimicrobiano, como resultado de um grupo amina na posição C-2 do resíduo de glicosamina. Ela tem sido extensamente estudada em relação a esta atividade sobre o *Streptococcus mutans* (que causam apodrecimento dos dentes) (SANO e col., 1985) e para *Escheria coli* e *Staphylococcus aureus* (que causam diarreia) (UCHIDA e col., 1988).

Tem sido registrada no controle de crescimento de bolor e leveduras (ALAN & HADWIGER 1979; KENDRA & HADWIGER, 1984; FANG e col., 1994) sendo aplicada em alimentos para então suprimi-los (SUGAWARA, 1993; GHAOUTH e col., 1994). Por este motivo, é usada como um conservante alimentar em pickles, macarrões etc. e foi registrada como uma influente depressora de crescimento de *Trichophyton equinum* que causam dermatofitoses e ainda, um regulador de crescimento de microrganismos na agricultura (ALLAN e col., 1979, HADWIGER e col., 1984).

UCHIDA (1998) registrou a atividade antimicrobiana de quitosana degradada por quitosanase e mostrou que a degradação parcial a 5% apresentou maior atividade do que a não-degradada. Ele presumiu que a atividade antimicrobiana de quitosana depende do número total de grupos aminas na molécula, mas não identificou o efeito sobre o peso molecular.

Complexos de quitosana têm mostrado ser plasmídeo protetor contra a degradação por nucleases, facilitando também, a transferência celular por fraca interação com a membrana celular (LEONG e col., 1998; MACLAUGHLIN e col., 1998; ROY e col., 1999).

Uma das mais promissoras características da quitosana é sua excelente habilidade de ser processada dentro de estruturas porosas para uso em transplante de células e regeneração de tecidos. MORI e col. (1997), examinaram os efeitos da quitina e seus derivados em proliferação de fibroblastos, e seus resultados mostraram que a quitosana não tinha efeito na proliferação de fibroblasto *in vitro*. Entretanto, ele pode acelerar indiretamente a proliferação fibroblástica *in vivo* (UENO e col., 1999), e também possui propriedades cicatrizantes de feridas.

1.5 – Solução de quitosana associada a diferentes materiais

Nenhum trabalho associando membrana de quitosana a suportes como não tecido, poliéster, musseline, fibra de algodão, compressa absorvente e pano TEG foi citado em literatura.

1.5.1 – Não tecido

Estrutura formada por fibras ou filamentos naturais, artificiais ou sintéticos dispostos em várias direções e solidificados através de processos químicos, mecânicos ou físicos (calor e pressão, jatos de água e ar), o não tecido diferencia-se do tecido convencional unicamente pela maneira como são tecidas suas linhas, ato que definirá a gramatura do tecido (www.sebraees.com.br).

Na maioria dos casos, as fibras/filamentos representam a principal matéria-prima na fabricação dos não tecidos. Sua proporção nos produtos finais varia de 30 a 100%. É sempre indispensável a indicação nominal e porcentual da composição de suas matérias primas constituintes. As propriedades das fibras/filamentos somadas às fornecidas pelo processo de fabricação/consolidação/transformação definem as características finais dos não tecidos e também seu desempenho.

As matérias-primas das fibras/filamentos mais utilizadas são:

- a) artificiais: viscose, vidro, silicone, acetato;
- b) naturais: lã, algodão, coco, sisal, cashmere, asbesto, metálicas (níquel-cromo, césiocromo) e cerâmicas;
- c) sintéticas: Poliéster, Polipropileno, Poliamida (nylon), Poliacrilonitrila (Acrílico), Polietileno, Policarbonato;
- d) dispersões poliméricas: látex sintético (polímero insaturado de butadieno), polímeros de ácido acrílico, polímeros vinílicos (acetato de vinila, éter vinílico, cloreto de vinila), ou copolímeros destes;
- e) soluções: poliuretana e borracha silicônica;
- f) sólidos (pós e pastas): termoplásticos (copoliâmidas, polietileno, EVA e PVC) e termofixos (resina fenólica).

As principais utilizações do não tecido estão na área médico-hospitalar (máscaras, gorros, toucas, aventais, sapatilhas, ataduras, gazes); na área doméstica

(tapetes, cortinas, toalhas de mesa, panos de limpeza e outros); na área de filtração de sólidos (pós), líquidos (óleos, solventes químicos) e outras impurezas; na área automobilística (isolamento térmico e acústico, base de peças moldadas, acabamento de superfície, carpete do assoalho e outros; área de calçados (biqueira, contra-forte, palmilha, substrato para cabedal, forro e outros); área de confecção (entretelas de modo geral, contribuindo para a estrutura e caimento das roupas em geral); área de enchimento (enchimento de colchas, edredons, jaquetas, ombreiras e outros); área de geotêxtil (estabilização do solo, drenagem e controle de erosão, contribuindo com a conservação das estradas, canais e contenção de encostas); área de construção civil (impermeabilização de lajes, telhados e sub-solos, como isolante térmico e acústico de tetos e paredes); área de móveis e estofados (proteção das molas dos colchões e estofados, substrato do laminado vinílico para acabamento); e, na área de higiene pessoal (véu de superfície de fraldas, fraldões e absorventes femininos) (MARTINES, 02/2006).

1.5.2 – Musseline

Musselina ou Mousseline é um tecido muito leve e transparente, com toque macio e fluido, desenho tafetá, fios de seda (de acetato, viscose, lã, algodão, poliéster ou poliamida), com torções elevadas. Em geral o tecido é cru (ou com seda tinta em cru), com vários acabamentos, conforme a qualidade da Musseline (MARTINES, 11/2006).

A musseline é bastante utilizada na confecção de camisas e camisolas, vestidos e blusas com panos sobrepostos que admitam certa transparência. (www.susanauribarri.com.br).

1.5.3 – Poliéster

Poliéster é a fibra sintética de maior consumo no setor têxtil, podendo ser utilizada pura ou em mistura com algodão, viscose, náilon, linho ou lã, em proporções variadas. Os tecidos resultantes prestam-se à fabricação de inúmeros artigos como camisas, camisetas, pijamas, calças, ternos, lençóis, cortinas etc. Também no segmento de mantas e não tecidos o poliéster é bastante utilizado em aplicações como

entretelas, enchimento de agasalhos e edredons (isolante térmico) e outras aplicações não têxteis (filtros, mantas impermeabilizantes, etc.). Além disso, o poliéster é a mais barata das fibras têxteis, sejam químicas ou naturais.

Apresentam características e propriedades de ter boa resistência à luz e ao uso; não enrugar; ter boa elasticidade; resistir a maior parte dos produtos químicos; ser de fácil tratamento e secar rapidamente (MARTINES, 06/2006).

1.5.4 – Compressa absorvente

É uma compressa absorvente de algodão coberta por um película microperfurada de poliéster através da qual os fluídos são absorvidos. O lado do filme do curativo é voltado para a ferida (www.politec.net). São indicadas para feridas sem infecção, drenando exsudato de volume discreto a moderado, com ou sem tecido necrótico, de profundidade parcial (ou até 0,5cm), podendo ser utilizada apenas associada ao hidrogel. (BORGES e col., 2004), além de abrasões e lascerações ou queimaduras leves.

Apresenta a vantagem de ter baixa aderência e alta absorção, ser confortável, minimizar a dor no momento da retirada; ser fácil de cortar e usar (www.politec.net).

Objetivos

2 – Objetivos

Constituem objetivos desta dissertação:

- Realizar testes com a matéria-prima (quitosana) quanto às características físico-químicas, através do grau de desacetilação da quitosana e grau de higroscopia.
- Dado às propriedades hemostáticas, antimicrobianas e cicatrizantes da quitosana, preparar membranas deste polímero, secas em estufa ou liofilizadas, incorporadas a agentes reticulantes como glutaraldeído em diversas concentrações, visando o uso como curativos no tratamento de úlceras de pressão, estase e diabética.
- As membranas obtidas serão incorporadas a suportes mecânicos, como poliéster, fibra de algodão ou de seda, compressa absorvente, pano TEG, musseline e não tecido com diferentes gramaturas.
- As formulações que oferecerem maior interesse serão avaliadas quanto à capacidade do material incorporar água na forma de soro fisiológico.
- Verificar o comportamento da quitosana em diferentes concentrações com relação a um suporte mecânico.
- Verificar o custo aproximado para as membranas preparadas com suporte mecânico.

Material e Métodos

3 – Material e Métodos

3.1 – Extração da quitina

Figura 8 – Matéria-prima (camarão) para obtenção da quitosana (em pó e em solução).

A obtenção de quitosana foi a partir das cascas de camarão (*Penalidae schimitti*, *P. brasiliensis* e *P. paulensis*), procedente do litoral sul de São Paulo – SP, Brasil.

O processo básico utilizado para a extração da quitina envolve a remoção de proteínas (desproteínização), minerais (desmineralização) como: carbonato de cálcio e fosfato de cálcio, e pigmentos (despigmentação) (CANELLA *et al.*, 2001; WANG, 2001).

O método utilizado para a extração da quitina das cascas de camarão envolveu as seguintes etapas (Figura 9):

- Etapa 1: desproteínização: a extração de componentes protéicos, ligados covalentemente à matriz polimérica, das cascas secas dos camarões foi feita através do tratamento com uma solução aquosa de hidróxido de sódio 10% por 6 horas, sob agitação constante em temperatura ambiente. O material desproteínizado foi filtrado e lavado com água destilada até a neutralidade.

- Etapa 2: desmineralização: o material obtido da etapa anterior foi imerso em solução de ácido clorídrico 10% para remoção de sais minerais como carbonato e fosfato de cálcio. A reação foi mantida por 6 horas, sob agitação constante e à temperatura ambiente. O material resultante da reação foi filtrado e lavado diversas vezes com água destilada.

- Etapa 3: despigmentação: o produto da etapa 2 foi colocado em suspensão em solução de NaOCl contendo 3% de cloro ativo, por 3 horas, nesta fase, foram removidos os pigmentos contidos na matriz polimérica.

Finalmente a amostra foi filtrada, lavada, e obteve-se a quitina purificada. Após o tratamento, a quitina obtida foi seca e estocada, uma vez que é um intermediário estável para posterior desacetilação que deu origem à quitosana.

Figura 9 – Obtenção da quitina.

3.2 – Obtenção da quitosana

O processo de desacetilação visa converter a quitina em quitosana (Figura 10) o qual consiste no tratamento da quitina com solução de hidróxido de sódio 50% em temperatura elevada (100 °C – 110 °C), por 5 horas, para remover os grupos acetil presentes na quitina (NO e col., 1995). A quitosana produzida no Laboratório de Tecnologia Químico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo foi utilizada em todos os ensaios posteriores.

Numerosos métodos têm sido propostos pela literatura a fim de se obter uma determinação precisa do grau de quitosana, entretanto, neste trabalho, três técnicas foram realizadas na obtenção da determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana: 1- Técnica colorimétrica de ninhidrina; 2- Titulação do sal de Br-quitosana e 3- Infra-vermelho (IV). De uma maneira geral, estes métodos medem de forma direta ou indireta a quantidade de grupos NH_2 livres no carbono C2 do anel piranosídico da quitosana.

Figura 10 – Obtenção da quitosana.

3.3 – Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana

3.3.1 – Método colorimétrico da ninhidrina

A análise quantitativa dos grupos amino livres (NH_2) da molécula de quitosana foi determinada pela técnica da ninhidrina, reagente normalmente utilizado para identificar e quantificar estes grupamentos (CUROTTO, 1993).

Soluções 0,1 mg/mL de quitosana em ácido acético 3%, foram preparadas à 20° C sob agitação. As amostras permaneceram sob agitação por 24 horas a fim de garantir a total solubilização da amostra. Alíquotas de 0,5 mL destas soluções foram adicionadas a 0,5 mL de tampão acetato (4 mol/L, pH 5,5). Cada amostra foi adicionada de 2,0 mL de reagente de ninhidrina. As amostras foram agitadas vigorosamente e colocadas em banho fervente por 20 minutos. Após resfriamento, a absorbância foi lida a 570 nm em espectrofotômetro Incibrás, modelo MF 200 UV-VIS.

3.3.2 - Método da titulação do sal de Br-quitosana

A medida do grau de desacetilação da quitosana por titulação dos sais de Br-quitosana titulados com NaOH 0,1 mol/L foi realizada segundo o método citado a seguir:

Quantidades de 0,5 g de amostras de quitosana foram dissolvidas em 100 mL de HBr 0,2 mol/L. A esta solução foi adicionada 50 mL de HBr 9,0 mol/L sob agitação vigorosa a fim de precipitar o sal de Br-quitosana.

Centrifugou-se a solução por 30 minutos a 2000 rotações por minuto (rpm), descartando-se o sobrenadante. O precipitado foi lavado por várias vezes com uma solução de metanol:éter (1:1, v/v), até a neutralidade onde sofreu secagem em dessecador por 12 horas até obtenção do sal de Br-quitosana (KHAN, 2002).

Alíquota de 0,2 g do sal obtido na etapa anterior foi dissolvido em 100 mL de água destilada. Uma quantidade de 20 mL desta solução foi titulada com NaOH 0,1 mol/L na presença do indicador fenolftaleína.

O grau de desacetilação da amostra de quitosana por este processo foi determinado baseando-se nas informações de que o número de moles de álcalis neutralizados corresponde ao número de moles de bromo presente e que o número de moles de bromo neutralizado, por sua vez, corresponde ao número de moles de unidades D-glicosamina inicialmente presente na solução.

3.3.3 - Por infra-vermelho (IV)

O ensaio de infra-vermelho foi realizado em parceria com o Departamento de Biologia Molecular do Instituto de Pesquisa em Energia Nuclear (IPEN) e Instituto de Química (IQ), Central Analítica que possuem o equipamento NICOLETTE. A medida através de infra-vermelho do grau de desacetilação da quitosana foi realizado como método de confirmação dos resultados obtidos pelos ensaios de ninhidrina e dos sais de Br-quitosana.

3.4 - Grau de higroscopia

Assim como as mucilagens (polissacarídeos de vegetais superiores), a quitosana apresenta a capacidade de reter grande quantidade de água, formando géis e/ou emulsões, o que garante vantagens aos filmes produzidos a partir dela.

No presente trabalho, o grau de higroscopia da quitosana foi determinado com o material desidratado, ou seja, após a secagem por liofilização. As amostras foram pesadas em balança analítica e colocadas em dessecadores com diferentes graus de

umidade. As pesagens foram feitas em intervalos de 1 hora, durante 5 horas, até o período onde os pesos das amostras ficassem constantes. Após as pesagens, a mesma foi rapidamente recolocada no dessecador, submetendo-a ao vácuo.

Os sais utilizados nas câmaras de saturação, colocados no fundo das câmaras podem ser vistos na tabela 1:

Tabela 1: Sais utilizados nas câmaras de saturação a 20°C

Sal	Umidade relativa a 20°C (%)
MgCl ₂ . 6H ₂ O	33,10
NaBr	59,20
BaCl ₂	90,70

3.5 - Preparo das membranas

3.5.1 - Preparo das soluções

O preparo de todas as soluções foram feitas de acordo com as boas práticas de manipulação, seguindo as normas farmacotécnicas.

3.5.1.1 - Preparo da solução de ácido acético

Foi preparada uma solução de ácido acético 1% partindo-se do ácido acético glacial.

3.5.1.2 - Preparo da solução de polivinilpirrolidona (PVP)

Fez-se uma solução de PVP 4% a partir do pó de PVP 30.

3.5.1.3 - Preparo das soluções de quitosana 1%, 2%, 3% e 6%

Pesou-se 1,0 g de quitosana e colocou-se em béquer. Adicionou-se cerca de 80 mL da solução de ácido acético 1% e com auxílio de agitador magnético, solubilizou-se a quitosana nesta solução. O produto obtido foi colocado em proveta e completou-se o volume para 100 mL com o ácido acético 1%. Filtrou-se a solução com auxílio de algodão.

As soluções a 2, 3 e 6% foram feitas da mesma maneira, pesando-se 2,0; 3,0 e 6,0g de quitosana, respectivamente. A solução a 6% não foi filtrada devido à alta viscosidade da solução.

3.5.1.4 - Preparo da solução de quitosana-PVP com glutaraldeído e glioxal

A solução de quitosana-PVP foi preparada misturando-se as soluções feitas de acordo com os itens 3.5.1.2 e 3.5.1.3 em igual proporção (v/v). A essa solução foi adicionado glutaraldeído 25% sob constante agitação na proporção de 1% da solução de quitosana-PVP.

A solução de quitosana-PVP e glioxal 40% foi preparada da mesma forma que a solução de quitosana-PVP com glutaraldeído.

3.5.1.5 - Preparo da solução de quitosana e colágeno

A solução de quitosana foi feita conforme item 3.5.1.3, porém com a quantidade suficiente para o preparo de uma solução a 1,5%. Foi adicionado colágeno na mesma proporção de tal forma que a solução final ficou com quitosana 1,5% e colágeno 1,5%.

3.5.1.6 - Preparo da solução de quitosana e fibroína de seda

A solução de quitosana foi feita conforme item 3.5.1.3 na concentração de 1,0%. Foi adicionada uma solução de fibroína de seda na proporção de 0,5% sob agitação até total solubilização.

3.5.1.7 - Preparo da solução de quitosana e cinamaldeído

A solução de quitosana foi feita conforme item 3.5.1.3 na concentração de 1,0%. A essa solução foi adicionado duas gotas de cinamaldeído em 50 mL da solução de quitosana a 1,0%.

3.5.1.8 - Preparo da solução de quitosana e papaína

A solução de quitosana foi feita conforme item 3.5.1.3 na concentração de 1,0%. Foi adicionada 1,0 g de papaína em quantidade suficiente para 100 mL da solução de quitosana, fazendo uma solução de quitosana 1,0% e papaína 1,0%.

3.5.2 - Preparo das membranas

A preparação das membranas de quitosana do presente trabalho foi baseada na metodologia descrita por KHAN e col., (2000), com pequenas adaptações.

As membranas sem suporte mecânico foram feitas colocando-se 50 mL de uma solução de quitosana preparada conforme descrito 3.5.1.3 e 3.5.1.4, em placa de Petri.

Essas placas foram secas em estufa a 60° C, até atingirem pesos constantes, ou foram liofilizadas em equipamento Edwards do Brasil, modelo L4 KR 118, obedecendo-se as seguintes condições: temperatura de congelamento -70° C e velocidade de resfriamento de 2,5 graus por minuto.

As membranas com suporte mecânico (Figura 11) foram feitas cortando-se o suporte mecânico (nãotecido com gramaturas de 20, 50 e 80; poliéster, algodão, compressa absorvente, musseline com gramatura de 20 e 80, pano de TEG e membrana de quitosana) no formato da placa de Petri. Colocou-se o suporte primeiro, depois adicionou-se 50 mL da solução de quitosana determinada descrita nos itens 3.5.1.3 a 3.5.1.8.

As membranas feitas com mais de um suporte, foram obtidas da maneira de “sanduíche”, ou seja, colocou-se um suporte, depois a solução de quitosana e por cima mais um suporte, momentos antes do congelamento.

Essas membranas foram secas em estufa ou liofilização nas mesmas condições das membranas sem suporte.

Figura 11 – Suportes mecânicos usados na preparo de membranas de quitosana. A- Musseline 20; B- Musseline 80; C- Poliéster; D- Compressa Absorvente; E- Nãotecido 20; F- Nãotecido 50; G- Nãotecido 80.

As diversas membranas foram preparadas associando-se diferentes concentrações, misturando-as com substâncias que pudessem otimizá-las, introduzindo alguns suportes mecânicos e secando-as por estufa ou liofilização (Tabela 2).

Tabela 2: Listagem das membranas de quitosana

Membrana	Quitosana	Associação	Suporte	Secagem
A	2%	PVP+glutaraldeído	—	estufa
B	3%	PVP+glutaraldeído	—	estufa
C	6%	PVP+glutaraldeído	—	estufa
D	2%	PVP+glioxal	—	estufa
E	3%	PVP+glioxal	—	estufa
F	6%	PVP+glioxal	—	estufa
G	2%	PVP+glutaraldeído	—	liofilização
H	3%	PVP+glutaraldeído	—	liofilização
I	6%	PVP+glutaraldeído	—	liofilização
J	2%	PVP+glioxal	—	liofilização
K	3%	PVP+glioxal	—	liofilização
L	6%	PVP+glioxal	—	liofilização
M	1,5%	—	—	estufa
N	6%	lavagem com PBS	—	estufa
O	3%	—	nãotecido 80	estufa
P	3%	—	fibra de seda	estufa
Q	1%	—	TEG de mesh 160	estufa
R	1%	—	TEG de mesh 200	estufa
S	1%	—	TEG de mesh 300	estufa
T	3%	PVP+glutaraldeído	compressa absorvente	liofilização
U	3%	PVP+glutaraldeído	nãotecido 50	liofilização
V	3%	PVP+glutaraldeído	algodão	liofilização
W	3%	—	quitosana seca em estufa	estufa e liofilização

Material e Métodos

39

X	3%	—	nãotecido 20	liofilização
Y	3%	—	nãotecido 80	liofilização
Z	3%	—	quitosana seca em estufa + nãotecido 20	estufa e liofilização
AB	3%	—	2 camadas nãotecido 20	liofilização
AC	3%	—	poliéster	liofilização
AD	3%	—	2 camadas de compressa absorvente	liofilização
AE	3%	—	2 camadas de musseline 20	liofilização
AF	3%	—	2 camadas de musseline 80	liofilização
AG	2%	—	poliéster	liofilização
AH	2%	—	poliéster + musseline 20	liofilização
AI	2%	—	2 camadas de musseline 80	liofilização
AJ	1%	—	poliéster	liofilização
AK	1,5%	colágeno 1,5%	nãotecido 20	liofilização
AL	1,5%	colágeno 1,5%	nãotecido 80	liofilização
AM	1%	papaína 1%	poliéster	liofilização
AN	1%	cinamaldeído	poliéster	liofilização
AO	1%	fibra de seda 0,5%	poliéster	liofilização
AP	1%	—	—	liofilização
AQ	2%	—	—	liofilização
AR	3%	—	—	liofilização

3.6 - Absorção de líquidos

A metodologia empregada neste teste foi baseada naquela descrita por MA e col. (2001) e TONHI E PLEPIS (2002).

As membranas com melhores características físicas, ou seja, agradável sensação ao toque, maciez, maleabilidade e resistência foram escolhidas para a realização desse teste.

As amostras escolhidas foram as secas por liofilização que foram mantidas em dessecador. Essas amostras foram fracionadas, pesadas e imersas em soro fisiológico 0,9% separadamente. Após 30 minutos, 10, 20 e 48 horas foram pesadas novamente retirando-se o excesso do soro, com auxílio de uma pinça. O teste foi realizado em triplicata.

A porcentagem de absorção de líquidos foi calculada de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ absorção de líquidos} = \frac{(\text{peso úmido} - \text{peso seco})}{\text{peso seco}} \times 100\%$$

3.7 - Microscopia eletrônica de varredura

As membranas de quitosana de maior interesse foram submetidas à avaliação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) no laboratório da Universidade de Campinas –SP. Essas amostras foram metalizadas com carbono e então visualizadas no MEV, marca LEO 440I, no LRAC/FEQ/UNICAMP.

Resultados e Discussão

4 – Resultados e discussão

4.1 - Síntese da quitosana

Foi obtido um pó amarelado, fino, com leve odor de camarão, insolúvel em água, álcool, acetona e em soluções com pH levemente ácido, neutro ou básico ($\text{pH} \geq 6,0$) e solúvel em solução de ácido acético/água com $\text{pH} < 6,0$ (Figura 12).

Figura 12 - Quitosana em pó sintetizada no Laboratório de Tecnologia Químico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo.

4.2 - Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana pelo método colorimétrico da ninhidrina, titulação do sal de Br-quitosana e por infravermelho (IV)

Para determinar o grau de desacetilação da quitosana pelo método colorimétrico da ninhidrina, foi realizada uma curva do monômero isolado de D-glicosamina (Figura 13) nas concentrações de 10 a 70 μg para determinar qual dosagem da amostra poderia ser utilizada para realização desse teste.

A análise da Figura 13 permite concluir que a concentração do monômero isolado de D-glicosamina foi diretamente proporcional à densidade óptica. A concentração para a amostra de D-glicosamina de 50 μg obteve uma leitura de densidade óptica muito próxima de 100%. A partir deste resultado, os testes com as amostras de quitosana foram realizados igualmente na mesma concentração (50 μg de amostra).

Figura 13 - Curva das densidades ópticas do monômero de D-glicosamina pela concentração em µg de amostra.

O resultado obtido da titulação com ninhidrina, foi em torno de 40% para a amostra de quitosana, resultado semelhante ao método de IV empregado na mesma amostra, que foi em torno de 45%. O resultado obtido do grau de desacetilação da amostra analisada pela técnica de titulação do sal de Br-quitosana com NaOH 0,1 Mol/L foi de 70 % para a amostra.

Sabendo-se que a determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana por infra-vermelho (IV) é o método considerado de escolha de acordo com muitos autores, por ser mais exato e preciso, foi assumido, neste trabalho de pesquisa, o valor do grau de desacetilação das amostras usadas no ensaio como sendo de 45%.

O espectro de IV da amostra de quitosana pode ser vista na Figura 14.

Figura 14 - Espectroscopia de Infra-Vermelho da amostra de quitosana.

4.3 - Grau de higroscopia

A quitosana teve uma grande retenção de umidade na primeira hora chegando a 13% na câmara com 90,70% de umidade. A amostra que teve a menor retenção de umidade foi aquela na câmara com NaBr e 59,20% de umidade.

As amostras tiveram valores de retenção diferentes em cada câmara (Figura 15), porém o comportamento das três foi bastante semelhante, ou seja, no tempo 1 foi considerado que as amostras não apresentavam nenhuma umidade. Após uma hora (tempo 2) todas as amostras retiveram uma grande quantidade de umidade, no tempo 3 (duas horas após o início do experimento) houve um ganho de umidade, porém foi menor que a primeira hora. Esse ganho de umidade foi se tornando menor em todas as câmaras, chegando a ficar constante naquela com umidade relativa de 90,70% entre o tempo 4 e o tempo 5, e um aumento mínimo na câmara com 33,10% de umidade entre o tempo 4 e o tempo 6 do experimento.

Figura 15 - Grau de Higroscopia da quitosana em câmaras com diferentes umidades relativas.

4.4 – Preparação das membranas de quitosana

As membranas representadas pelas Figuras 16 a 58 foram preparadas conforme descritas no item 3.5, utilizando a nomenclatura da Tabela 2 do item 3.5.2.

4.4.1- Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas em estufa e associadas a PVP e glutaraldeído

As fotos das membranas de quitosana a 2%, 3% e 6%, secas em estufa e associadas à PVP e glutaraldeído, podem ser vistas através das Figuras 16, 17 e 18 respectivamente.

Através da análise destas membranas, pode-se afirmar que quanto maior for a concentração da quitosana, mais desvantagens apresenta a respectiva membrana. Percebe-se que o brilho e a flexibilidade vão diminuindo, enquanto que a aderência e a friabilidade, vão aumentando. Para a finalidade visada, estas características não são adequadas e, portanto, a exploração industrial desses tipos de membranas seria inviável.

Figura 16 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glutaraldeído (A): Translúcida, coloração marrom escura, brilhosa e quebradiça, bastante aderida à placa, com maior deposição de quitosana em um lado da placa.

Figura 17 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído (B): Translúcida, coloração marrom escura, solta nas laterais, bastante aderida à placa, dura, quebradiça, brilhosa e pouco maleável.

Figura 18 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glutaraldeído (C): Membrana totalmente disforme, com imperfeições; pontos com coloração mais escura, na sua totalidade, coloração marrom. A membrana se apresentou bastante aderida à placa.

4.4.2 - Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas em estufa e associadas a PVP e glioxal

As fotos das membranas de quitosana a 2%, 3% e 6%, secas em estufa e associadas à PVP e glioxal, podem ser vistas através das Figuras 19, 20 e 21 respectivamente.

A Figura 19 mostra uma membrana que, se devidamente trabalhada, pode ser viável economicamente para fabricação de cápsulas, por exemplo, uma vez que é constituída por pouco polissacarídeo (2%), apresenta coloração atrativa e boa flexibilidade. O mesmo não se aplica à membrana representada pela Figura 20, que perde sua flexibilidade e volume original, assim como pela membrana da Figura 21, que nesta concentração e processo de obtenção, não formou uma membrana.

Figura 19 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glioxal (D): Membrana fina, translúcida, brilhosa, amarela; resistente quando flexionada levemente, porém ao ser forçada, quebra se estilhaçando. A membrana ao ser retirada da estufa, apresentou quebras irregulares.

Figura 20 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glioxal (E): Membrana translúcida, marrom clara, disforme, diminuição do tamanho com a secagem, maleável, mas ao ser forçada, se rasga ou se quebra.

Figura 21 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glioxal (F): Formato de cristais, não formou membrana, houve uma redução acentuada de tamanho. A coloração ficou marrom escura e bem dura, sendo inviável para obtenção de filme.

4.4.3 - Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por liofilização e associadas à PVP e glutaraldeído

As membranas representadas pelas Figuras 22, 23 e 24 associadas à PVP e glutaraldeído, secas por liofilização e em diferentes concentrações de quitosana, mostraram resultados interessantes, na fabricação de curativos, uma vez que se tornaram macias (2 e 3%) e com agradável sensação ao toque, porém com a desvantagem de serem quebradiças. Essa característica poderia ser solucionada caso fosse introduzido um suporte mecânico que impediria o rompimento dessa membrana.

A solução de quitosana-PVP a 6% ficou bastante viscosa e com a introdução de glutaraldeído se tornou gelatinosa e heterogênea com grumos.

Figura 22 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glutaraldeído (G): Membrana marrom clara à rosada, com fissuras; o aspecto é brilhoso, macia, resistente, esponjosa, opaca, maleável e quebradiça.

Figura 23 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído (H): Membrana rósea amarronzada, com fissuras; é macia, resistente, esponjosa, opaca, pouco maleável e quebradiça com pouco esforço.

Figura 24 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glutaraldeído: Membrana totalmente disforme com ondulações, buracos, coloração irregular rósea com pontos mais escuros marrons. A membrana ficou bastante resistente e dura.

4.4.4 - Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por liofilização e associadas à PVP e glioxal

A maciez apresentada pelas membranas representadas pelas Figuras 25 e 26, deve ser considerada como uma vantagem, porém a falta de flexibilidade e demasiada fragilidade são qualidades indesejáveis para uma membrana.

Figura 25 – Membrana de quitosana 2% + PVP + glioxal (J): Membrana com coloração branca perolizada, com muitas fissuras; é macia, maleável, esponjosa, opaca, pouco resistente e quebradiça.

Figura 26 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glioxal (K): Membrana com coloração amarela clara (creme) menos brilhosa que a Figura 25, com fissuras, sendo macia, esponjosa e quebradiça.

Figura 27 – Membrana de quitosana 6% + PVP + glioxal (L): Coloração amarelada e que se esfarela facilmente, não formando membrana.

A primeira etapa na obtenção das membranas foi realizada dos itens 4.4.1 a 4.4.4. Com a análise desses resultados, pôde-se perceber que as membranas liofilizadas poderiam ser mais interessantes para um curativo, já que não apresentariam bordas duras ou cortantes que diminuiriam a possibilidade de agravar o ferimento de um paciente. Mesmo verificando que as membranas liofilizadas poderiam ser mais

promissoras, foram obtidas mais algumas membranas secas em estufa com suporte mecânico, com a tentativa de minimizar as bordas e mantê-las mais uniformes.

Membranas de quitosana a 6% (Figuras 18, 21, 24, 27), secas por estufa ou liofilizadas, e em diferentes associações (glutaraldeído ou glioxal), não apresentaram bons resultados, por serem excessivamente duras, além do custo mais elevado.

4.4.5 - Membranas preparadas em diferentes concentrações, secas por estufa

A Figura 28 mostra duas membranas preparadas conforme item 3.5.1.3, porém apresentaram características diferentes, possivelmente por pequenas variações na temperatura de secagem, o que poderia aumentar ou diminuir a aderência à placa de Petri, determinando a facilidade de sua retirada.

Foi obtida uma membrana com solução de quitosana 6%, seca em estufa (Figura 29), que devido ao odor de ácido acético, foi lavado com uma solução de PBS, porém ficou totalmente disforme. O odor de ácido acético não é um fator preocupante na formulação, pois se sabe que em baixas concentrações, não é tóxico, já que é utilizado na culinária. Esse odor fica menos intenso com o passar do tempo.

Foram feitas soluções de quitosana e colocadas sobre alguns suportes mecânicos (Figura 30 a Figura 34), com a finalidade de manter o tamanho e o formato da membrana e de não ocorrer o estilhaçamento e não apresentarem as bordas cortantes, quando secas em estufa.

Figura 28 - Membranas de quitosana 1,5% (M): Membranas amarela translúcida, brilhosa, com ondulações, plástica, não apresenta reprodutibilidade.

Figura 29 – Membrana de quitosana 6%, lavada com PBS (N): Membrana marrom clara, translúcida, irregular, com aspecto gelatinoso. Houve uma deformação intensa após a lavagem da membrana com PBS e água.

Figura 30 – Membrana de quitosana 3% + não tecido 80 (O): Membrana marrom clara, com superfície lisa e deposição irregular de quitosana. A membrana ficou dura e resistente. A superfície inferior apresentou quitosana apenas nas laterais. A membrana ficou bastante aderida à placa. A- superfície superior; B- superfície inferior.

Figura 31 – Membrana de quitosana 3% + fibra de seda (P): Membrana muito dura, com pouca flexibilidade e alta resistência. As fibras de seda ficaram entrelaçadas e a quitosana, ao redor das fibras.

Figura 32 - Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 160 (Q): Membrana brilhosa na superfície da quitosana e opaca na superfície do suporte, maleável, a solução de quitosana não passou pelo tecido. A- superfície superior; B- superfície inferior.

Figura 33 - Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 200 (R): Não apresentou diferença com a membrana com tecido de poliéster com mesh 160. A- superfície superior; B- superfície inferior.

Figura 34 - Membrana de quitosana 1% com pano TEG de mesh 300 (S): Não apresentou diferença com a membrana com tecido de poliéster com mesh 160 e 200. A- superfície superior; B- superfície inferior.

4.4.6 - Membranas de quitosana a 3%, secas por liofilização e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos

Observando as diferentes concentrações das soluções de quitosana (2, 3 e 6%) que foram feitas, verificou-se que a de 3% com PVP e glutaraldeído ou glioxal eram que apresentava uma menor quantidade de fissuras, pressupondo-se que era a concentração mais favorável à obtenção de um curativo. Foram introduzidos então, diferentes suportes mecânicos para evitar o rompimento dessas membranas.

A solução de quitosana após a adição do PVP e do glutaraldeído ou glioxal apresentou uma viscosidade maior quando comparada à solução pura, porém ao serem preparadas as membranas (Figura 35 a Figura 38), estas ficaram quebradiças e pouco macias. Fez-se, então membranas de quitosana sem a presença dessas substâncias (Figura 39 a Figura 46).

As fotos das membranas preparadas a 3% e secas por liofilização, podem ser vistas através das Figuras 35 a 46.

Figura 35 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + compressa absorvente (T): Coloração marrom escura, resistente e com algumas rachaduras; apresenta pouca maciez e é quebradiça. Os pedaços não se separam devido ao suporte. A – superfície superior; B – superfície inferior.

Figura 36 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + não tecido 50 (U): Membrana com coloração marrom, dura e quebradiça, com apenas uma rachadura na superfície superior; apresenta leve ondulação. A – superfície superior; B – superfície inferior.

Figura 37 – Membrana de quitosana 3% + PVP + glutaraldeído + base de algodão (V): Membrana com coloração rosada, brilhosa, macia, quebradiça, com deposição do algodão na parte inferior da membrana.

Figura 38 - Membrana de quitosana 3% bicamada (estufa + liofilização) (W): Membrana dura, totalmente disforme, sem flexibilidade. Coloração marrom, com fissuras. A camada da membrana de estufa não ficou aparente.

Figura 39 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 20 (X): Membrana com coloração levemente amarelada, apresentou algumas rachaduras; não teve deformações e encolhimentos e a superfície inferior ficou homogênea. A – superfície superior; B – superfície inferior.

Figura 40 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 80 (Y): Membrana com coloração levemente amarelada, com algumas rachaduras e leve deformação nas laterais. A parte inferior ficou homogênea, sem rachaduras, com o tecido à mostra em algumas partes. A – superfície superior; B – superfície inferior.

Figura 41 – Membrana de quitosana 3% com suporte de quitosana + náotecido 20 (Z): Devido ao suporte de quitosana, a superfície superior ficou irregular, com grandes ondulações. A membrana ficou com coloração amarela e muito dura.

Figura 42 – Membrana de quitosana 3% + náotecido 20 nas duas superfícies (AB): Membrana branca amarelada, bastante macia. A membrana ficou totalmente uniforme nas duas superfícies e não houve rachaduras.

Figura 43 – Membrana de quitosana 3% com poliéster (AC): Superfície superior irregular e dura, a superfície inferior ficou uniforme e bem macia. A coloração é amarela brilhosa.

Figura 44 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de compressa absorvente (AD): É possível ver a compressa nas duas superfícies. Apresentou coloração amarela, com brilho na superfície superior. A membrana ficou bem macia, resistente, flexível, suave ao toque.

Figura 45 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de musseline 20 (AE): A membrana teve uma coloração amarelo claro com a superfície superior voltado para o branco perolado. A membrana ficou macia, resistente, flexível com leve ondulação.

Figura 46 – Membrana de quitosana 3% + 2 camadas de musseline 80 (AF): A membrana apresentou coloração amarelo claro, sem que na superfície superior ficasse a mostra o suporte mecânico e, assim como a Figura 45, se mostrou macia, resistente, flexível, porém com a superfície uniforme.

4.4.7 - Membranas de quitosana a 2% e a 1%, liofilizadas e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos

De um modo geral, as membranas a 3% apresentaram-se macias e resistentes, porém não se moldavam com facilidade sobre uma superfície irregular, como uma proeminência óssea, por exemplo. Para tentar melhorar a maleabilidade da membrana, diminuiu-se a concentração da quitosana para 2% (Figuras 47, 48 e 49) e 1% (Figura 50).

Figura 47 – Membrana de quitosana 2% + poliéster (AG): Membrana grossa com leves ondulações na superfície superior. Apresenta coloração amarelo claro perolisado. Membrana macia, resistente, sem rachaduras, flexível.

Figura 48 – Membrana de quitosana 2% + poliéster + musseline 20 (AH): Membrana branca perolisada com leve ondulação, resistente, dura, pouco flexível, sem rachaduras. A – superfície superior; B – superfície inferior.

Figura 49 - Membrana de quitosana 2% + 2 camadas de musseline 80 (AI): Membrana teve coloração amarelo claro, brilhoso, apresentou aspecto macio, não muito flexível, resistente. A superfície superior ficou um pouco irregular, a superfície inferior, apresentou uma superfície regular, porém em alguns lugares com bolhas.

Figura 50 - Membranas de quitosana 1% + poliéster (AJ): Coloração amarelo claro, brilhosa, bem macia, com aspecto homogêneo, resistente, moldável. Apresenta reprodutibilidade.

4.4.8 - Membranas de quitosana associadas a diferentes substâncias, liofilizadas e incorporadas a diferentes tipos de suportes mecânicos

Algumas substâncias como a papaína e o colágeno são utilizados no tratamento de úlceras de pressão. Foram introduzidas essas substâncias para o preparo de membranas (Figuras 51 a 53) com função terapêutica aumentada, porém a membrana com papaína (Figura 53) teve sua estrutura química modificada, ficando solúvel em meio aquoso.

Figura 51 – Membrana de quitosana 1,5% + colágeno 1,5% + não tecido 20, seca por liofilização (AK): Membrana branca perolisada com algumas rachaduras, sem alteração no formato e no tamanho, macia, flexível. O tecido não ficou à mostra, exceto na parte superior com leve dobradiça. A superfície inferior ficou homogênea.

Figura 52 – Membrana de quitosana 1,5% + colágeno 1,5% + não tecido 80 seca por liofilização (AL): Membrana branca perolisada com rachaduras na superfície superior e com o tecido à mostra. Macia, agradável sensação ao toque.

Figura 53 - Membrana de quitosana 1% + papaína 1% + poliéster (AM): Membrana branca, cristalina, brilhosa, macia. Superfície regular com fibras na superfície, mas sem rachaduras. Forte odor de ácido acético.

Figura 54 - Membrana de quitosana 1% com cinamaldeído + poliéster (AN): Coloração amarelada, cristalina, macia, com odor característico de canela, resistente, superfície regular.

Figura 55 - Membrana de quitosana 1% + fibra de seda 0,5% + poliéster (AO): Membrana branca, opaca, macia, pouco resistente, quebradiça e esfarela com o atrito (solta partículas bem leves). Quebradiça, porém não se divide em pedaços devido ao suporte mecânico.

4.4.9 - Membranas de quitosana secas por liofilização, sem suporte mecânico

As membranas sem suporte mecânico foram preparadas com o objetivo de serem comparadas aquelas com suporte mecânico nas mesmas concentrações para a realização da microscopia eletrônica de varredura.

Figura 56 - Membrana de quitosana 1% sem suporte (AP): A membrana apresentou coloração amarelo claro, brilhosa, bastante macia, porém ao ser forçada se esfarela facilmente e não apresenta resistência para se moldar a uma superfície irregular.

Figura 57 - Membrana de quitosana 2% sem suporte (AQ): A membrana ficou com coloração amarelo, brilhosa. Ficou macia, porém menos que a membrana de quitosana 1%.

Figura 58 - Membrana de quitosana 3% sem suporte (AR): Membrana com coloração marrom claro, brilhosa, dura, não se molda e ao ser forçada se quebra.

As membranas secas em estufa, incluindo aquelas com PVP e glutaraldeído ou glioxal, com fibra de seda, não tecido, pano TEG nas concentrações de 1, 2, 3 e 6% apresentaram-se com excesso de resistência, pouco maleáveis e quebradiças. Por essas características, as membranas de quitosana secas em estufa seriam inadequadas para uso em ferimentos, pois poderiam lesar mais ainda a pele já debilitada devido não se moldarem aos contornos da ferida. As liofilizadas a 6% praticamente não formaram membranas, as liofilizadas a 2 e 3% apresentaram-se macias, porém com excesso de rigidez, fissuras, quebradiças.

Por essas formulações apresentarem fissuras provocando a impossibilidade de manipulação das membranas, foi introduzido diferentes suportes mecânicos, para manter a integridade e melhorar a maleabilidade.

Dentre todas as membranas obtidas, as liofilizadas com suporte mecânico de poliéster, algodão, compressa absorvente, não tecido com diferentes gramaturas (20, 50 e 80 g/m²) e musseline com gramatura de 20 e 80 g/m², foram as que apresentaram melhores características, sendo selecionadas para realização do teste de absorção de líquidos.

4.5 - Absorção de líquidos

A quitosana em contato com o soro fisiológico 0,9% se tornou gelatinosa, porém não se desfaz devido ao suporte mecânico, com exceção das membranas produzidas com fibra de seda e papaína, que a tornou solúvel no meio, deixando apenas o suporte mecânico.

Os resultados variaram de 5,2 a 38,2% de absorção de líquidos (Figura 59). A membrana com menor absorção de líquidos foi a obtida com papaína e poliéster, e a membrana que teve maior absorção de líquidos foi a com quitosana 1% e poliéster, pois esse suporte não impediu a penetração do líquido na membrana de quitosana.

A capacidade de absorção de líquidos é importante para um curativo para úlceras de pressão uma vez que podem servir de base para outros medicamentos ou, caso a ferida esteja apresentando grande quantidade de exsudato, o curativo permite que o excesso dessa substância não fique em contato direto com a pele.

Figura 59 - Teste de retenção de líquidos das melhores membranas de quitosana associadas a diferentes suportes mecânicos.

A: membrana de quitosana 3% com PVP e glutaraldeído com algodão como suporte mecânico (V);

B: membrana de quitosana 3% com duas camadas de não tecido com gramatura de 20 (AB);

C: membrana de quitosana 3% com poliéster (AC);

D: membrana de quitosana 3% com suporte de duas camadas de compressa absorvente (AD);

E: membrana de quitosana 3% com duas camadas de musseline de gramatura de 20 (AE);

F: membrana de quitosana 3% com suporte de duas camadas de musseline de gramatura 80 (AF);

G: membrana de quitosana 2% com poliéster (AG);

H: membrana de quitosana 2% com uma camada de poliéster e musseline de gramatura de 20 (AH);

I: membrana de quitosana 2% com suporte de duas camadas de musseline de gramatura de 80 (AI);

J: membrana de quitosana 1% com poliéster (AJ);

K: membrana de quitosana 1,5% com colágeno 1,5% e suporte de não tecido com gramatura de 20 (AK);

L: membrana de quitosana 1,5% com colágeno 1,5% e suporte de não tecido com gramatura de 80 (AL);

M: membrana de quitosana 1% com papaína 1% e suporte de poliéster (AM);

N: membrana de quitosana 1% com gotas de cinamaldeído e poliéster (AN);

O: membrana de quitosana 1% e fibra de seda 0,5% e suporte de poliéster (AO).

Visto que as membranas com maior retenção de líquido foram as com quitosana a 1% e 2% e poliéster, respectivamente, foram estudadas sob o aspecto microscópico a fim de visualizar o tamanho e a quantidade de poros presente nessas estruturas. Foi estudada também a membrana a 3% com poliéster com esse mesmo objetivo.

Para efeitos comparativos, foram obtidas membranas sem suporte mecânico nas mesmas concentrações para verificar como a quitosana se comporta em relação ao suporte.

4.6 - Microscopia eletrônica de varredura das membranas de quitosana

Algumas membranas vistas no item 4.4, foram observadas em um microscópio eletrônico de varredura e a superfície escolhida foi aquela mais lisa a olho nu como aquela em contato com a placa.

A fotomicrografia de varredura abrange um pequeno espaço ampliado 75X, 300X ou 1000X. Quando se visualiza as membranas a olho nu, verifica-se que existem diferentes partes na superfície superior e inferior, aparecem fibras paralelas num sentido, ao lado fibras em outro sentido, partes lisas, esponjosas, brilhosas, opacas, aparecendo ou não o suporte mecânico.

Devido a esse fato, pode-se notar diferenças entre as Figuras 60 a 62 que correspondem a membrana de quitosana 1%, as Figuras 63 a 65 são de quitosana 2% e as Figuras 66 a 68 são de quitosana 3%, todas com suporte mecânico de poliéster. Essas diferenças também podem ser notadas entre as Figuras 69 a 71, 72 a 74 e 75 a 77, que correspondem a membrana de quitosana 1, 2 e 3% sem suporte mecânico, respectivamente.

As Figuras 60, 61 e 62 mostram a membrana de quitosana 1% com suporte de poliéster em diferentes aumentos. Verifica-se que há diferenças entre a superfície superior e inferior, devido possivelmente à cristalização no momento do congelamento para fazer a liofilização, ou a presença do suporte mecânico na superfície inferior, ou por ter fotografado partes diferentes como citado anteriormente.

Nota-se também que a membrana de quitosana 1% com suporte mecânico (Figuras 61B e 62B) apresenta poros definidos e grandes, características importantes para a retenção e manutenção de líquidos, quando comparada às membranas a 2%

(Figura 65) e 3% (Figura 68). Para uma melhor visualização da maior quantidade de poros entre as membranas a 1 e 3%, pode-se comparar as Figuras 60B e 66C. Nota-se que na Figura 60B há mais pontos escuros que na Figura 66C, mostrando a quantidade de poros.

A presença do suporte mecânico (Figuras 61B, 62B, 67B e 68) mostra que a solução de quitosana cobriu as fibras do suporte, deixando os poros mais definidos e aparentemente mais estáveis, quando comparados as membranas sem suporte (Figuras 69B, 69C, 70C e 73).

As Figuras 66A, 66B e 67A mostram canalículos vistos em corte transversal de uma região que o suporte não aparece e apresenta uma grande concentração de quitosana. As imagens obtidas pela fotomicrografia são mostradas a seguir:

Figura 60 – Fotomicrografia da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A - superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 61 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X. A -superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 62 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X. A- superfície superior; B- superfície inferior.

Figura 63 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A-superfície superior; B-superfície inferior.

Figura 64 - Fotomicrografia da superfície superior da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X. A - superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 65 - Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 2% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.

Figura 66 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A - superfície superior; B - superfície superior; C - superfície inferior.

Figura 67 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X. A - superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 68 - Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 3% com suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.

Figura 69 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A - superfície superior; B - superfície inferior; C - superfície inferior.

Figura 70 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X. A - superfície superior; B - superfície superior; C - superfície inferior; D - superfície inferior; E - superfície inferior.

Figura 71 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 1% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X. A - superfície superior; B - superfície superior; C - superfície inferior.

Figura 72 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A - superfície superior; B - superfície superior; C - superfície inferior.

Figura 73 - Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 2% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X.

Figura 74 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 2% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X. A - superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 75 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 75X. A - superfície superior; B - superfície inferior.

Figura 76 - Fotomicrografia da superfície da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 300X. A - superfície superior; B - superfície superior; C - superfície inferior.

Figura 77 - Fotomicrografia da superfície inferior da membrana de quitosana a 3% sem suporte mecânico de poliéster. Aumento de 1000X.

4.7 – Preços

O custo do tratamento dos ferimentos crônicos é em geral muito elevado devido ao tempo necessário para cicatrização, trocas constantes dos curativos, tamanhos ou pesos disponíveis no mercado, entre outros fatores. De acordo com uma pesquisa feita em sites de vendas no dia 20 de novembro de 2006, pôde-se verificar o preço de alguns curativos disponíveis no mercado (Tabela 3). O curativo mais barato é o filme transparente de poliuretano no valor de R\$ 6,99 a unidade que deve ficar apenas em ferimentos com pouco exsudato e deve ser trocado quando houver acúmulo deste ou ocorrer o deslocamento de cima do ferimento. O curativo mais caro o Dermacerium® no valor de R\$ 455,98 não foi especificado o princípio ativo e nem o tipo de ferimento que deve ser utilizado, mas foi citado para ilustração que o tratamento dos ferimentos crônicos pode se apresentar bastante oneroso.

Para determinar o curativo mais conveniente no tratamento dos ferimentos crônicos não se deve levar em conta apenas o custo dos curativos mas, principalmente as características das feridas, a quantidade de exsudato, a presença de escaras, a profundidade e o tamanho da ferida e se há infecção.

Tabela 3: Preços dos curativos encontrados no mercado

Curativo	Preço	Características
Filme transparente de poliuretano	R\$ 6,99/unidade	Tamanho 10cmX25cm
Hidrogel	R\$ 24,99	
Placa de hidrocolóide	R\$ 25,96	Tamanho 15cmX20cm
Papaína	R\$ 12,00	Creme 30g a 1%
Alginato de cálcio	R\$ 24,00	Tamanho 10cmX1cm
Hidrogel com alginato	R\$ 30,00	
Carvão ativado com prata	R\$ 25,33	
Sulfadiazima de prata	R\$ 27,77	Creme 100g a 1%
Dermacerium® 2,2	R\$ 455,98	Creme 400g
Nitrato de cério + sulfadiazima de prata	R\$ 34,27	Creme 50g

O preço das membranas de quitosana (Tabela 4) foi calculado apenas do custo do material utilizado em laboratório, tomando por base os preços individuais:

- Quitosana: R\$ 30,00/kg;
- Musseline: R\$ 10,00/m²;
- Poliéster: R\$ 3,90/ m²;
- Compressa absorvente: R\$ 4,90 pacote com 10 unidades de 25cmX20cm;
- Não tecido: R\$ 2,50/ m²;

Tabela 4: Preço da quitosana para o preparo de 1,0 m² de membrana

Quitosana (1,0 m ²)	Preço de laboratório
1% sem suporte mecânico	R\$ 0,60
2% sem suporte mecânico	R\$ 1,20
3% sem suporte mecânico	R\$ 1,80

Somando-se o preço do suporte com a quitosana, obtém-se o preço de laboratório das membranas preparadas. Observa-se que 1,0 m² da membrana mais cara é a de 3% com musseline no valor de R\$11,80 ou R\$21,80 se tiver duas camadas do suporte e, a mais barata é a membrana de quitosana a 1% com o poliéster no valor de R\$ 1,58 pois o poliéster pode ser dividido em até quatro camadas devido a sua alta espessura.

A membrana de quitosana mais cara se apresenta com o preço inferior àquelas encontradas no mercado.

Conclusões

5 – Conclusões

A quitosana foi obtida no Laboratório de Tecnologia Químico-Farmacêutico da Universidade de São Paulo a partir das cascas de camarões de *Penalidae schimitti*, *P. brasiliensis* e *P. paulensis*, das quais foram extraídos primeiramente a quitina e então transformada em quitosana.

O grau de desacetilação das amostras foi de 45% de acordo com o método de infra-vermelho, considerado por muitos autores, mais exato e preciso. A quitosana teve uma retenção de umidade de 13% na primeira hora numa câmara com 90,70% de umidade.

Foram preparadas 43 membranas diferentes de quitosana, secas em estufa e liofilizadas. As membranas secas por liofilização apresentaram melhores características para um curativo quando comparadas às secas por estufa, pois não apresentavam bordas cortantes, não agravando os ferimentos.

Dentre as secas por liofilização, aquelas com suporte mecânico tiveram os melhores resultados, pois não se quebravam com facilidade.

As membranas de quitosana são de fácil preparo e apresentam grande capacidade de absorção de líquidos. A que teve maior absorção de líquidos foi a de quitosana 1% com suporte de poliéster com uma retenção de 38,2% de líquidos. Essa grande retenção de umidade foi comprovada pelo número e tamanho de poros, visto pela microscopia eletrônica de varredura. A membrana ficou macia, sem fissuras, resistente, se molda às diferentes curvaturas do corpo sendo a membrana que apresentou melhores características físicas. Outro fator bastante relevante para o interesse dessa membrana foi o fato dela apresentar o menor custo de laboratório no valor de R\$ 1,58/m².

Mesmo considerando que a membrana a 1% com o poliéster tenha o preço aumentado quando forem incluídos os custos da liofilização, embalagem, outros materiais, colaboradores, instalação e divulgação com certeza terá um valor mais acessível para todas as pessoas, mesmo as de menor poder aquisitivo, que necessitam de curativos para ferimentos crônicos.

Essa membrana pode ser muito promissora para um curativo e para futuros estudos detalhados *in vitro* e *in vivo* que comprovem todas as vantagens apresentadas nesse trabalho.

O assunto, lesões crônicas, é de fundamental importância a todos os profissionais da área da saúde, pacientes, entidades hospitalares, mantenedoras, sistemas oficiais e privados responsáveis pelos cuidados à saúde. Essas membranas podem contribuir muito para a sociedade, pois são produzidas através de uma matéria-prima que antes era descartada, mas que demonstrou grandes perspectivas futuras.

Referências Bibliográficas

- ANGARTEN, M.G.; SANTOS, M.L.F. Detecção de alterações em exame físico da pele da região de apoio de pacientes submetidos prolongadamente a um mesmo decúbito. **Revista Brasileira de Enfermagem**, n.33, p.443-452, 1980.
- BAJAY, H.M.; JORGE, S.A.; DANTAS, S.R.P.E. Curativos e coberturas para o tratamento de feridas. In: JORGE, S.A.; DANTAS, S.R.P.E. **Abordagem multiprofissional no tratamento de feridas**. São Paulo: Atheneu, 2003. p.81-99.
- BARBOSA, P.M.K.; SILVA, L.C.P. Utilização da clara de ovo em neve nas úlceras de decúbito. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.8, n.2/4, p.29-36, 1994.
- BERGSTROM, N.; ALLMAN, R.M.; ALVAREZ, O.M.; BENNETT, A.; CARLSON, C.E.; FRANTZ, R.A.; KAMINSKI JR., M.V.; KEMP, M.G.; KROUSKOP, T.A.; LEWIS JR., V.L.; MAKLEBUST, J.; MARGOLIS, D.J.; MARVEL, E.M.; REGER, S.I.; RODEHEAVER, G.T.; SALCIDO, R.; XAKELLIS, G.C.; YARKONY, G.M. **Treatment of pressure ulcers**. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Health Care Policy and Research, 1994.
- BERGSTROM, N.; BENNETT, M.A., CARLSON, C.E.*et al* – Pressure Ulcer Treatment. Clinical Practice Guideline. Quick Reference Guide for Clinicians, number 15. AHCPR Publication no 95-0653. Rockville, MD: Agency for Health Care Policy Research, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, 1994 *in* Manual de Tratamento de Feridas. Hospital das Clínicas. Universidade Estadual de Campinas, 1999:
- BERNKOP-SCHMARCH, A.; KAST, C.E. Chemically modified chitosans as enzyme inhibitors. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.52, n.2, p.127-137, 2001.
- BLANES, L. Coberturas. **Estima**, v.1, n.1, p.42-43, 2003.
- BLANES, L. Tratamento de feridas. In: BAP BAPTISTA. Cirurgia vascular. **Feridas**. São Paulo, 2004. Disponível em: <http://www.bapbaptista.com>. Acesso em: 24 abr 2006

- BORCHARD, G. Chitosans for gene delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.52, n.2, p.145-150, 2001.
- BORCHARD, G.; JUNGINGER, H.E. Modern drug delivery applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.52, n.2, p.103, 2001.
- BORGES, E.L., OLIVEIRA, V.G., LIMA, V.L.A.N., Projeto de extensão atendimento ao portador de ferida crônica e o papel do bolsista. Belo Horizonte: Anais do 7º Encontro de Extensão da Universidade Federal de Minas Gerais; 2004, <http://www.ufmg.br/proex/arquivos/7Encontro/Saude153.pdf>
- BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; LIMA, V.L.A.N.; GOMES, F.S.L.; MAGALHÃES, M.B.B. **Feridas**: como tratar. Belo Horizonte: Coopmed, 2001. p.97-120.
- CAMPEDELLI, M.C.; GAIDZINSKI, R.R. **Escara**: problema na hospitalização. São Paulo: Ática. 1987. 64p.
- CANELLA, K.M.N.C.; GARCIA, R.B. Caracterização de Quitosana por Cromatografia de Permeação em Gel – Influência do Método de Preparação e do Solvente. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p.13-17, 2001.
- CANNON, B.C; CANNON, J.P. Management of pressure ulcers. **Am J Health-Syst Pharm**, v.61, p.1895-1905, 2004.
- CENTRE FOR MEDICAL EDUCATION, El Programa de lãs heridas. **The University of Dundee**, Scotland. 1994. p. 188.
- COELHO, S.C.; SILVA, R.C. Perfil dos pacientes hospitalizados com úlcera de pressão. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.19, n.2, p.64-69, 2004.
- CRUSE, P.J.E.; PHEDRAN, N.T.M. Cura e tratamento das feridas. In: SABISTON Jr., D.C. **Fundamentos de cirurgia de Sabiston**. São Paulo: Manole, 1991. p.143-148.
- CUROTTO, E.; AROS, F. Quantitative determination of chitosan and the percentage of free amino groups. **Analytical Biochemistry**, v.211, p.240-241, 1993.
- DAVIDSON, A. Surgical infection. **Nursing Times**, v.91, n.39, p.59-65, 1995.

- DEALEY, C. **Cuidando de feridas**: um guia para as enfermeiras. São Paulo: Atheneu, 1996. 256p.
- DEE, G.J.; RHODE, O.; WACHTER, R. Chitosan: multi-functional marine polymer. **Cosmetics & Toiletries**, v.116, n.2, p.39-42, 2001.
- DERMATOLOGY IMAGE ATLAS. Johns Hopkins University. Disponível em: <http://dermatlas.med.jhmi.edu/derm/>. In: Biocure® Membrana Natural para cicatrização Monografia do produto
- DUNG, P.; MILA, M.; RINAUDO, M.; DESBRIÈRES, J. Water soluble derivatives by controlled chemical modifications of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v.24, p.209-214, 1994.
- EAGLSTEIN, W.H. Moist wound healing with occlusive dressings: a clinical focus. **Dermatologic Surgery**, v.27, n.2, p.175-181, 2001.
- FALANGA, F.; EAGLSTEIN, W.H, eds. **Úlceras dos membros inferiores**: diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Revinter, 1996. 182p.
- FIELD, C.K.; KERSTEIN, M.D. Overview of wound healing in a moist environment. **American Journal of Surgery**, v.167, n.1, p.2-6, 1994.
- FIGUEIREDO, M. Úlceras varicosas. In: PITTA, G.B.B.; CASTRO, A.A.; BURIHAN, E, eds. **Angiologia e cirurgia vascular**: guia ilustrado. Maceió: UNCISAL/ECMAL & LAVA, 2003. Disponível em: <http://www.lava.med.br/livro/>. Acesso em: 16 mai 2006.
- FURTADO, K. A. X.; "Úlceras de Pressão- Actualidades e paradoxos", Revisão Centro de Saúde de Penha de França – Lisboa, 2003.
- GENTILHOMME, E.; NEVEUX, Y.; LEBEAU, J.; DESMOULIERE, A.; BERGIER, J.; SCHMITT, D.; HAFTEK, M. Modulation of a fibrotic process induced by transforming growth factor beta-1 in dermal equivalents. **Cell Biology and Toxicology**, v.15, n.4, p.229-238, 1999.

-
- GOMES, F.S.L.; BORGES, E.L. Coberturas. In: BORGES, E.L.; SAAR, S.R.C.; LIMA, V.L.A.N.; GOMES, F.S.L.; MAGALHÃES, M.B.B. **Feridas: como tratar**. Belo Horizonte: Coopmed, 2001. p.97-120.
- ILLUM, L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. **Pharmaceutical Research**, v.15, n.9, p.1326-1331, 1998.
- KARLSEN, J.; SKAUGRUD, O. Excipient properties of chitosan. **Manufacturing Chemist**, v.62, p.18-19, 1991.
- KELLY, M.A. **Nursing diagnosis source book: guidelines for clinical application**. Norwalk: Appleton-Century-Crofts, 1985. 353p.
- KHAN, T. A.; PEH, K. K.; CH'NG, H. S.; Mechanical, Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing, **J Pharm Pharmaceut Sci**, 3(3): 303-311, 2000
- KHAN, T.A.; PEH, K. K. A preliminary investigation of chitosan film as dressing for punch biopsy wounds in rats. **J Pharm Pharmaceut Sci**, v.6, n.1, p.20-26, 2003
- KNORR, D. Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. **Food Technology**, v.45, n.1, p.114-122, 1991.
- LEHR, C.M.; BOUWSTRA, J.A.; SCHACHT, E.H.; JUNGINGER, H.E. *In vitro* evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. **International Journal Pharmacology**, v.78, p.43-48, 1992.
- LI, Q.; DUNN, E.T.; GRANDMAISON, E.W.; GROOSEN, M.F.A. Applications and properties of chitosan. **Journal of Bioactive and Compatible Polymers**, v.7, n.4, p.370-397, 1992.
- LIONELLI, G.T.; LAWRENCE, W.T. Wound dressings. **Surgical Clinics of North America**, v.83, n.3, p.617-638, 2003.

- MA, J.; WANG, H.; HE, B.; CHEN, J. A preliminary in vitro study on the fabrication and tissue engineering applications of a novel chitosan bilayer material as a scaffold of human neonatal dermal fibroblasts. **Biomaterials**, v.22, p.331-336, 2001.
- MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S.'A. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. Parte I. **An. Bras. Dermatol.**, v.78, n.4, p.393-408, 2003.
- MANTHUR, N.K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan, versatile polysaccharides from marine animal. **Journal of Chemical Education**, v.67, n.11, p.938-942, 1990.
- MARTINES, E. Ficha técnica de musseline, TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná, 11/2006, disponível em: <http://sbtr.ibict.br> acessado em 20 nov 2006
- MARTINES, E. Ficha técnica de não tecido, TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná, 02/2006, disponível em: <http://sbtr.ibict.br> acessado em 20 nov 2006
- MARTINES, E. Ficha técnica de poliéster, TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná, 06/2006, disponível em: <http://sbtr.ibict.br> acessado em 20 nov 2006
- MONETTA, L. Uso da papaína nos curativos feitos pela enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.40, n.1, p.66-72, 1987.
- NIFANT'EV, N.E.; CHEMETSKII, V.N.. **Mendeleev Chem. J.**, v.41, p.96-100, 1998.
- NO, H.K.; MEYERS, S.P. Preparation and characterization of chitin and chitosan: a review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v.4, n.2, p.27-52, 1995.
- NUNTHANID, J.; PUTTIPIATKHACHORN, S.; YAMAMOTO, K.; PECK, G.E. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.27, n.2, p.143-157, 2001.
- ORNUM, J.V. Shrimp waste must it be wasted. **Infofish International**, v.6, p.48-52, 1992.

-
- OTTOY, M.H.; VARUM, K.M.; CHRISTENSEN, B.E.; ANTHOSEN, M.W.; SMIDSRFD, O. Preparative and analytical size-exclusion chromatography of chitosans. **Carbohydrate Polymers**, v.31, p.253-261, 1996.
- PENDER, L.R.; FRAZIER, S.K. The relationship between dermal pressure ulcers, oxygenation and perfusion in mechanically ventilated patients **Intensive and Critical Care Nursing**, v.21, p.29-38, 2004.
- PETER, M.G. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. **Journal of Macromolecular Science: Pure and Applied Chemistry**, v.A32, n.4, p.629-640, 1995.
- POTTER, P.A.; PERRY, A.G. **Grande tratado de enfermagem prática**. São Paulo: Tempo, 1996. 999p.
- REDDY, M.M.P. Prevención y tratamiento de las úlceras de decúbito en el anciano. **Sandorama**, v.1, p.19-22, 1986.
- ROBBINS, S.L.; KUMAR, V.; COTRAN, R.S. Inflammationand repair. In: **Robbins pathology basis of disease**. 5.ed. Philadelphia: W.B. SAUNDERS, 1994. p.51-92.
- ROBERTS, G.A.F. **Chitin chemistry**. Hampshire: Macmillam, 1992. 350p.
- ROGENSKI, N.M.B.; BAPTISTA, C.M.C.; SOFIA, M.H. O uso da papaína a 2% nas lesões provocadas pela Síndrome de Fournier: a propósito de 14 casos. **Revista Paulista de Enfermagem**, v.17, n.1, p.39-45, 1998.
- ROSSI, W. R.; ROSSI, F. L.; FONSECA F, F. F.; Pé diabético: tratamento das úlceras plantares com gesso de contato total e análise dos fatores que interferem no tempo de cicatrização, **Rev Brás Ortop**, v.40, n.3, p.459-467, 2005.
- SAMPAIO, S.A., RIVITTI, A.E., Fisiopatologia e Imunologia Cutâneas, **Dermatologia Básica**, v.2, p.26-47, 1989.
- SAMPAIO, S. **Dermatologia**. 2ª Edição. Livraria Ed. Artes Médicas 2002.

- SANCHES, N.R.; BARONI, B.; TEVES, D.C.; SIMÕES, M.J.; NOVO, N.F.; JULIANO, Y. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.8, n.1, p.18-23, 1993.
- SANDFORD, P.A. Chitosan: commercial uses and potential applications. In: SKJAK-BRAEK, G.; ANTHONSEN, T.; SANDFORD, P.A., editors. **Chitin and chitosan-sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications**. New York: Elsevier; London: Applied Science, 1989. p.51-70.
- SANTOS, V.L.C.G. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: DUARTE, Y.A.O.; DIOGO, M.J.D. **Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico**. São Paulo: Atheneu, 2000. cap.21, p.265-306.
- SCHIRATO, G.V.; MONTEIRO, F.M.F.; SILVA, F.O.; LIMA FILHO, J.L.; LEÃO, A.M.A.C.; PORTO, A.L.F.; O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas, **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.149-154, 2006.
- SCOTT, E.M.; BAKER, E.A.; KELLY, P.J.; STODDARD, E.J.; LEAPER, D.J. Measuring of interface pressures in the evaluation of operating theatre mattresses. **Journal of Wound Care**, v.8, n.9, p.437-441, 1999.
- SILVA, L.M. Efeitos benéficos da papaína no processo terapêutico de lesões de pele. In: JORGE, S.A.; DANTAS, S.R.P.E. **Abordagem multiprofissional no tratamento de feridas**. São Paulo: Atheneu, 2003. p.123-131.
- SINGLA, A.K.; CHAWLA, M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects: an update. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.53, p.1047-1067, 2001.
- SMELTZER, S.C.; BARE, B.G., eds. **Brunner & Suddarth: tratado de enfermagem médico-cirúrgica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 243 páginas.
- TARAVEL, M.N.; DOMARD, A. Relation between the physicochemical characteristics of collagen and its interactions with chitosan: I. **Biomaterials**, v.14, n.12, p.930-938, 1993.

- THACHAROD, D.; RAO, P.K. **Int. J. Pharm.**, p.115-120, 1995.
- THEAKER, C.; KUPER, M.; SONI, N. Pressure ulcer prevention in intensive care - a randomised control trial of two pressure-relieving devices **Anaesthesia**, v.60, p.395-399, 2005
- THOMAS, D.A.; SPERLING, L.H. In: PAUL, D.R.; NEWMAN, S., eds. **Polymer blends**. New York: Academic Press, 1978. p.3.
- THOMAZ, J.B. Úlcera de estase venosa dos membros inferiores. In: THOMAZ J.B., C.D.C HERDY. **Fundamentos de cirurgia vascular e angiologia**. São Paulo: Fundação BYK, 1997. p.290-309.
- TIAGO, F. **Feridas**: etiologia e tratamento. 3.ed. Ribeirão Preto: FAEPA, 1996. pag 10-16.
- TONHI, E.; PLEPIS, A.M.G.; Obtenção e Caracterização de Blendas Colágeno-Quitossana, **Quim Nova**, v.25, n.6, p.943-948, 2002.
- UDOD, V.M.; STOROJUK, V.T. Use of papain in treating suppurative postoperative soft tissue complications and diseases. **Khirurgiia**, v.5, p.99-101, 1981.
- UENO, H.; MORI, T.; FUJINAGA, T. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.52, n.2, p.105-115, 2001.
- UTRACKI, L.A. **Polymer alloys and blends**: thermodynamics and rheology. Munich, New York: Hanser Publishers, 1990. p.1-27.
- VIIDIK, A.; VUUST, J., eds. **Biology of collagen**. London, New York: Academic Press, 1980. 384p.
- WEBSITE HUMAN GENOME SCIENCES. 2000. Disponível em: http://www.hgsi.com/news/press/background_wounds.html. Acesso em: 29 abr 2006.
- WINTER, G.D. Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in skin of young domestic pig. **Nature**, v.193, n.4812, p.293-294, 1962.

YOMOTA, C.; MIYAZAKI, T.; OKADA, S. Determination of the viscosimetric constants for chitosan and the application of universal calibration procedure in its gel permeation chromatography. **Colloid and Polymer Science**, v.271, n.1, p.76-82, 1993.

Sites pesquisados em 20 de novembro de 2006:

www.eerp.usp.br/projetos/feridas/upressao.htm

<http://www.politec.net/Produtos/snc/cr%C3%B4nicos/melolin.htm>

http://www.sebraees.com.br/IdeiasNegocios/pag_mos_ide_neg.asp?id=665&tipoobjeto=3&objeto=665&botao=0

<http://www.susanauribarri.com.br/menuprodutos/tecidos.htm>

Declaração

Eu, Bronislaw Polakiewicz, professor da Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, área de Tecnologia Químico-Farmacêutica, declaro para os devidos fins que o programa de pós-graduação da aluna Karina Honda Adati, regularmente matriculada sob o número 5082360, dispensa análise do Comitê de Ética em Pesquisa e do Comitê de Ética em Experimentação Animal.

São Paulo, 18 de dezembro de 2006.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'B. Polakiewicz', written over a horizontal line.

Prof. Bronislaw Polakiewicz

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Karina Adati', written over a horizontal line.

Karina Honda Adati