



Andreia Patrícia Sousa Alves de Magalhães

Atividade antimicrobiana em têxteis

**Dissertação do 2.º Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em
Controlo de qualidade na Especialização de Água e Alimentos**

Orientador:

Professora Doutora Maria Eugénia Ribeiro Pinto
Faculdade de Farmácia
Universidade do Porto, Portugal

Coorientador:

Professora Doutora Helena Maria Neto Ferreira de Sousa
Faculdade de Farmácia
Universidade do Porto, Portugal

Setembro de 2015

Atividade antimicrobiana em têxteis

Este trabalho foi realizado no Departamento de Ciências Biológicas, Serviço de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP) em conjunto com o Departamento de Engenharia Têxtil da Universidade do Minho

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Eugénia Pinto por todo o apoio, ajuda, tempo disponibilizado, críticas e sugestões ao longo deste ano. O seu auxílio tornou-se essencial para a realização deste trabalho. Agradeço também por todos os conhecimentos transmitidos.

À Professora Doutora Helena Neto Ferreira de Sousa, minha co-orientadora igualmente por todo o apoio e conhecimentos transmitidos e por toda a disponibilidade ao longo deste último ano.

Ao Departamento de Ciências Biológicas, em particular ao Serviço de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, pela disponibilização de materiais e equipamentos necessários à realização deste trabalho.

Ao Departamento de Engenharia Têxtil da Universidade do Minho, nomeadamente à Professora Doutora Graça Soares, pelo fornecimento dos têxteis e de toda a informação relativa aos mesmos, assim como sua disponibilidade no esclarecimento de qualquer dúvida.

À Cristina Pinto da Costa e Nuno Oliveira, do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, por toda ajuda e disponibilidade.

Aos meus pais por todos os valores e confiança transmitidos ao longo da minha vida, pelo apoio, carinho e incentivo na continuação do percurso académico. Sem eles não teria sido possível concretizar a maioria dos meus sonhos. Agradeço ainda aos meus irmãos por todo amor e amizade ao longo destes anos.

Ao Emanuel por toda a paciência ao longo de todo o percurso académico e por todo o apoio incondicional em todas as decisões tomadas.

Por fim, a todos os amigos e familiares que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a minha formação, em especial à Ana Isabel Magalhães pelo apoio ao longo destes seis anos, pelas aventuras partilhadas e vitórias conseguidas em todo o nosso percurso académico.

Obrigada a todos.

Resumo

Os produtos têxteis desde sempre estiveram envolvidos na economia a nível mundial, e ainda hoje são indispensáveis na qualidade da nossa vida e, por isso, cada vez mais a tecnologia é aplicada nos têxteis para que o seu uso seja seguro para o consumidor.

O desenvolvimento de microrganismos nos têxteis causa problemas estéticos no têxtil, como manchas ou nódoas, descoloração, odores e diminuição da sua resistência, mas também pode causar ao consumidor problemas de saúde como é o caso das dermatofitoses ou infeções transmitidas em ambiente hospitalar. O uso de antimicrobianos em têxteis permitiu reduzir a presença de microrganismos.

A atividade antimicrobiana de diferentes têxteis foi determinada utilizando o método padronizado AATCC 147 e dois métodos não padronizados, a inoculação dos microrganismos no têxtil e a inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura. A atividade foi avaliada para várias estirpes de fungos e bactérias.

O têxtil de bambu mostrou eficácia antimicrobiana contra alguns dos microrganismos testados e o têxtil poliéster bioativo não mostrou qualquer atividade.

Nos têxteis que não mostraram efeito antimicrobiano foi impregnado o óleo essencial *T. vulgaris* e avaliada a sua eficácia recorrendo à metodologia qualitativa por inoculação dos microrganismos no têxtil. Os têxteis mergulhados na solução de *T. vulgaris* mostraram atividade inibitória contra a maioria dos microrganismos testados, na concentração de 5 e 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Para os têxteis funcionalizados com *T. vulgaris*, apenas foi observado efeito antimicrobiano para o algodão contendo 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de óleo essencial.

Palavras-chave: Bactérias; Fungos; Têxteis; Antimicrobianos; Atividade antimicrobiana

Abstract

Textiles have always been involved in the economy worldwide, and are still indispensable in the quality of our lives and therefore technology is applied to textiles to promote use a safe for the consumer.

The growth of microorganisms in the fiber causes esthetic problems in textiles as spots or stains, discoloration, odors and decreased resistance, but may also cause consumer health problems such as dermatophytosis or transmission of diseases as hospital transmission. The use of antimicrobial agents in textile reduces the presence of microorganisms.

The antimicrobial activity of different textiles was determined using the standard method AATCC 147 and two non-standardized methods, the inoculation of the microorganisms in the textile and carpet inoculation of microorganisms in the culture medium. Different strains of fungi and bacteria were used.

The bamboo textile showed antimicrobial efficacy against some of the microorganisms and polyester textile bioactive showed no activity.

Textiles not active were impregnated with essential oil *T. vulgaris* and was their effectiveness evaluated using the qualitative methodology, inoculation of microorganisms in textiles, the textile *T. vulgaris* dipped in solution and showed activity against most of the microorganisms tested at concentrations of 5 and 2.5 uL/mL. For textile functionalized with *T. vulgaris* only antimicrobial effect was observed for cotton containing 20 uL/mL essential oil.

Keywords: Bacteria; Fungi; Textiles; Antimicrobial agents; Antimicrobial activity

Índice

1. Introdução	1
2. Importância económica e social do sector têxtil e do calçado.....	4
3. Os Têxteis	7
3.1 Material têxtil.....	7
3.1.1 Algodão.....	10
3.1.2 Lã.....	11
3.1.3 Bambu	11
3.1.4 Poliéster.....	12
3.2 Processamento do material têxtil	12
3.3 Têxteis técnicos	13
4. As fibras têxteis: da sua biodegradação à sua proteção.....	15
4.1 Principais microrganismos nos materiais têxteis	15
4.2 Mecanismo de degradação das fibras têxteis por microrganismos.....	18
4.3 Importância dos acabamentos antimicrobianos nos têxteis.....	21
4.3.1 Têxteis hospitalares e cirúrgicos	22
4.3.2 Têxteis de vestuário profissional	24
4.3.3 Têxteis para calçado	25
4.4 Requisitos para um tratamento antimicrobiano	26
4.5 Métodos de aplicação dos antimicrobianos nos materiais têxteis.....	28
4.6 Mecanismo de ação dos antimicrobianos.....	29
4.7 Compostos antimicrobianos nos materiais têxteis	31
4.7.1 Compostos antimicrobianos sintéticos	32
4.7.2 Compostos antimicrobianos naturais.....	35
4.7.3 Têxteis antimicrobianos comerciais.....	40
4.8 Testes de atividade antimicrobiana nos materiais têxteis	42
4.8.1 Testes qualitativos	42
4.8.2 Testes quantitativos	45
5. Objetivos.....	47
6. Material e métodos.....	49
6.1 Caracterização das amostras têxteis.....	50
6.2 Preparação das amostras têxteis	51
6.3 Preparação dos meios de cultura	52
6.4 Estirpes de microrganismos testados.....	52
6.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos têxteis.....	53

6.5.1	Atividade antimicrobiana em têxteis:AATCC 147 -Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis: método de estrias paralelas	53
6.5.2	Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis: métodos qualitativos não padronizados	53
6.5.2.2	Inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura	54
6.6	Impregnação de compostos antimicrobianos nos têxteis e avaliação da sua atividade	55
6.6.1	Determinação da concentração mínima inibitória do <i>Thymus vulgaris</i>	55
6.6.2	Avaliação da atividade de <i>Thymus vulgaris</i> nos têxteis	56
6.6.3	Avaliação da atividade do Nitrato de prata nos têxteis	57
7.	Resultados.....	58
7.1	Atividade antimicrobiana em têxteis: Método ATCC 147 -Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis- método de estrias paralelas.....	59
7.2	Avaliação da atividade antimicrobiana em têxteis: métodos qualitativos não padronizados	60
7.2.2	Inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura	67
8.	Discussão.....	72
9.	Conclusões e Perspetivas futuras.....	80
10.	Referências Bibliográficas.....	83

Índice de ilustrações

Ilustração 1: Classificação geral das fibras têxteis	8
Ilustração 2: Evolução do consumo de fibras têxteis no mundo (milhões de toneladas).....	9
Ilustração 3: Consumo dos diferentes tipos de fibras têxteis no mundo (percentagem)...	10
Ilustração 4: Processo de transformação das fibras têxteis num produto têxtil).....	13
Ilustração 5: Evolução esquemática de um biofilme.....	19
Ilustração 6: Processo de degradação dos microrganismos nos têxteis.....	19
Ilustração 7: Diagrama de tratamentos antimicrobianos aplicados nos têxteis.....	27
Ilustração 8: Métodos de aplicação dos antimicrobianos nos materiais têxteis.....	28
Ilustração 9: Diferentes métodos para a inibição dos microrganismos.....	30
Ilustração 10: Resultado segundo a AATCC 147 com inibição de crescimento de <i>C. albicans</i> na zona adjacente ao têxtil.....	43
Ilustração 11: Exemplo do crescimento dos diferentes microrganismos em placa segundo o método AATCC 147 no têxtil S1-T2.....	60
Ilustração 12: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos em placa e em tubo, segundo o método de inoculação dos microrganismos nos têxteis S1.....	62
Ilustração 13: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos, segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.....	63
Ilustração 14: Diferentes concentrações de <i>T. vulgaris</i> impregnadas no têxtil S1-T5 e testadas segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.....	64
Ilustração 15: Têxteis mergulhados na solução de <i>T. vulgaris</i> com concentração de 5 e 2,5 µL/mL e testados segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.....	65
Ilustração 16: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos segundo o método de inoculação dos microrganismos nos têxteis S3.....	66
Ilustração 17: Têxtil S1:T5 mergulhado na solução AgNO ₃ e avaliado segundo o método inoculação dos microrganismos no têxtil.....	67
Ilustração 18: Têxteis da Série 2 segundo o método inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura para <i>S. aureus</i>	68
Ilustração 19: Exemplo do crescimento dos diferentes microrganismos em placa segundo o método AATCC 147.....	69
Ilustração 20: Efeito das soluções soro fisiológico/DMSO e água/etanol no <i>S. aureus</i>	70
Ilustração 21: Efeito da temperatura nas amostras algodão e poliéster com o solvente soro fisiológico/DMSO e <i>T. vulgaris</i> a 5 µL/mL em <i>S. aureus</i>	70

Ilustração 1: Efeito da temperatura nas amostras de algodão e poliéster com o solvente água/etanol e *T. vulgaris* a 5 µL/mL em *S. aureus*.....71

Índice de tabelas

Tabela 1: Números de produção, exportações, importações e consumo de calçado no ano de 2012	6
Tabela 2: Tipos de acabamentos, mecânicos e químico	13
Tabela 3: Principais microrganismos capazes de contaminar diferentes fibras têxteis	18
Tabela 4: Tratamentos antimicrobianos aplicados em têxteis.....	27
Tabela 5: Principais antimicrobianos utilizados pela indústria têxtil.	34
Tabela 6: Principais metabolitos secundários das plantas responsáveis pela atividade antimicrobiana e o seu mecanismo de ação.....	36
Tabela 7: Antimicrobianos à base de produtos naturais.	40
Tabela 8: Lista de alguns antimicrobianos e fibras antimicrobianas comerciais.....	41
Tabela 9: Composição das amostras da primeira série (S1: T2-T9).	50
Tabela 10: Composição da segunda série de amostras têxteis (S2: T1-T7).....	51
Tabela 11: Composição do terceiro conjunto de têxteis (S3: T1-T5).	51
Tabela 12: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S1: T2-T9 (frente-F e verso-V) de acordo com a norma AATCC 147.	59
Tabela 13: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S1:T2-T9 (frente-F e verso-V), segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.....	61
Tabela 14: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S2:T1-T7 segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.....	62
Tabela 15: Resultado da atividade antimicrobiana para os têxteis S3:T1-T5, funcionalizados com <i>T. vulgaris</i> , segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.	66
Tabela 16: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S2-T1, S2-T3 e S2-T7, segundo a norma AATCC 147.....	69

Lista de Abreviaturas

AATCC	<i>American Association of Textile Chemists and Colorists</i>
AgNO₃	Nitrato de prata
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Associação Têxtil e de Vestuário de Portugal
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CDs	Ciclodextrinas
CFU/mL	Unidades Formadoras de Colónia por mililitro
CIM	Concentração Mínima Inibitória
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CML	Concentração Mínima Letal
CO₂	Dióxido de carbono
DMSO	Dimetilsulfóxido
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
IACS	Infeções associadas aos cuidados de saúde
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MAC	<i>MacConkey Agar</i>
McF	Escala de <i>McFarland</i>
MHA	<i>Müller Hinton Agar</i>
MHB	<i>Müller Hinton Broth</i>
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
MSA	<i>Manitol Salt Agar</i>
MYC	<i>Mycosel Agar</i>
PET	Polietileno tereftalato
PHMB	Poliexametileno Biguanida
QCAs	Compostos de amónio quaternário
SDA	<i>Sabouraud Dextrose Agar</i>
SDB	<i>Sabouraud Dextrose Broth</i>
<i>T. vulgaris</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
Têxtil 2D	Têxtil dimensional
Têxtil 3D	Têxtil tridimensional
TSA	Triptona Soja Agar

VRE Enterecocos resistentes à vancomicina
w/v Massa/volume

Introdução

1. Introdução

As fibras têxteis fazem parte da história do Homem, quer no que se relaciona com a economia mundial quer com a nossa qualidade de vida, tornando-se indispensáveis não só em questões estéticas mas também culturais.

De acordo com a sua origem, as fibras têxteis são classificadas em dois grupos distintos, fibras naturais e fibras sintéticas. O primeiro grupo engloba fibras têxteis de origem natural, isto é, fibras que são utilizadas no processamento têxtil da mesma forma que são produzidas pela natureza e o segundo grupo abrange fibras produzidas a partir da matéria-prima de origem natural, fibras sintéticas (produzidas a partir de compostos orgânicos sintéticos) e fibras constituídas na totalidade por matéria-prima inorgânica (Jesus 2011).

Os produtos têxteis são apontados como um bom substrato para o crescimento de microrganismos, particularmente de fungos e bactérias. Estes microrganismos podem encontrar-se isoladamente em diferentes têxteis, ou em relação de simbiose num mesmo têxtil (Dring 2003). Os têxteis com origem em matérias-primas naturais como o algodão, linho e lã são mais suscetíveis à invasão por microrganismos (Szostak-Kotowa 2004; Błyskal 2009). Pelo contrário, as fibras sintéticas, por serem mais hidrofóbicas, são consideradas mais resistentes ao ataque por microrganismos. Contudo, os processos aplicados nestas fibras podem ser responsáveis pela diminuição da sua resistência (Puwar e Joshi 2004).

O desenvolvimento de bactérias ou fungos nos têxteis é dependente de fatores ambientais e das propriedades dos têxteis como a composição química, tipo de fibra e porosidade. Os fatores ambientais ideais para a sua proliferação são a luz, humidade, temperatura e poluição (Szostak-Kotowa 2004).

O crescimento de microrganismos nos têxteis causa alterações estéticas como manchas ou nódoas, descoloração, odores e diminuição de resistência do têxtil. Contudo, esse não é o único problema, o desenvolvimento de microrganismos nos têxteis pode ter consequências na saúde do consumidor, nomeadamente pela possibilidade de causarem infeções (Puwar e Joshi 2004). As infeções causadas pelos microrganismos continuam a ser uma fonte de preocupação em diferentes áreas como saúde, têxteis-lar, dispositivos médicos, equipamentos cirúrgicos e produtos de higiene (Munoz-Price et al. 2012). A maior parte das infeções surgem após contacto ou inalação com/do microrganismo patogénico (Muñoz-Bonilla e Fernández-García 2012). Em condições hospitalares, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) é uma bactéria que frequentemente causa infeções, e a sua resistência a antibióticos está a aumentar tornando-se uma preocupação. *Staphylococcus*

Atividade antimicrobiana em têxteis

aureus (*S. aureus*) pode colonizar a pele e mucosas humanas, sem causar nenhum problema. No entanto, se entrar em contacto com o corpo através de feridas ou abcessos o risco de desenvolver uma infeção é maior (Munoz-Price et al. 2012). As infeções fúngicas podem ser apenas superficiais, ou invasivas e potencialmente fatais. As infeções superficiais incluem o pé de atleta, provocado por dermatófitos e a candidíase das mucosas, tal como oral e vaginal, ou da pele e unhas, provocada essencialmente por *Candida albicans* (*C. albicans*) (Munoz-Price et al. 2012).

A possibilidade de contaminação e propagação de infeções, em particular a nível hospitalar, consciencializou a indústria para esta problemática tendo havido uma crescente produção de antimicrobianos para acabamento têxtil nomeadamente para roupa de cama de hospitais, vestuário de proteção (como por exemplo batas), forros de calçado, roupas/calçado de desporto e roupa interior (Gutarowska e Michalski 2012; Perera et al. 2013). Um estudo realizado entre 2001 e 2005 mostrou que 85% do total de antimicrobianos produzidos foram utilizados em meias, roupa/calçado de desporto e roupa interior, podendo esses valores ser explicados pelo facto da constituição destes têxteis ser essencialmente por fibras de algodão (Textiles Intelligence 2004; Gao e Cranston 2008). Um estudo mais recente da Comissão Europeia, de 2009, mostrou que na Europa são utilizadas cerca de 1546 toneladas de biocidas em fibras têxteis, couro, borrachas e materiais polimerizados (Papaspnyrides et al. 2009).

Os antimicrobianos podem impedir ou inibir o crescimento dos microrganismos, tendo um efeito considerado biocida ou bioestático respetivamente, de acordo com a sua atividade e o tipo de microrganismo em causa. A função dos antimicrobianos não se limita a proteger o têxtil da ação dos microrganismos aumentando a sua durabilidade/resistência, mas também proteger o utilizador dos efeitos nocivos associados a cada microrganismo (Gutarowska e Michalski 2012; Windler et al. 2013). Para serem aplicados nas fibras têxteis os antimicrobianos têm de respeitar alguns requisitos tais como ser eficiente, não-tóxico, durável, baixo custo e proteger o meio ambiente. A proteção do ambiente tem sido uma das preocupações das indústrias, assim como evitar as reações adversas na pele, observadas com o uso de alguns antimicrobianos sintéticos. Nesse sentido, a indústria tem implementando novos antimicrobianos à base de produtos naturais, principalmente derivados de plantas. Os derivados de plantas são conhecidos pela sua biocompatibilidade, baixa toxicidade, abundância e capacidade antimicrobiana (Kwakye-Awuah et al. 2008).

A seleção do antimicrobiano mais adequado para um determinado têxtil nem sempre é linear, uma vez que depende de fatores como o tipo de fibra, condições em que o têxtil vai ser utilizado e do tipo de microrganismo mais suscetível para o têxtil (Gutarowska e Michalski 2012).

2. Importância económica e social do sector têxtil e do calçado

As indústrias têxteis e do calçado sempre tiveram uma ligação com o Homem, não só devido à economia, mas também porque lhes proporcionam proteção e melhoria da qualidade de vida.

A indústria considerada mais antiga na fabricação de bens de consumo é a indústria têxtil, remontando a sua origem à Pré-história. Os registos mostram que na Era do Paleolítico o Homem das cavernas utilizou peles de animais para proteger o seu corpo e esta necessidade sempre acompanhou a humanidade (Bezerra et al. 2002; Retail Forum to sustainability 2013). Os primeiros materiais têxteis registados são naturais e de origem vegetal. Os investigadores acreditam que estes materiais foram descobertos de acordo com a seguinte ordem cronológica: linho – 5000 a.C. no Egito; lã - 4000 a.C. na Mesopotâmia; algodão - 3000 a.C. na Índia e a seda - 2640 a.C. na China (Bezerra et al. 2002).

Os produtos têxteis modificaram-se ao longo dos séculos e no final do século XX foram observados grandes desenvolvimentos nas áreas de microeletrónica, ciências de computação e biotecnologia. Esta evolução auxiliou no desenvolvimento de novos produtos têxteis. A descoberta das fibras sintéticas também revolucionou a indústria têxtil. Este tipo de fibras tornou-se indispensável ao Homem, uma vez que, em relação às fibras naturais, apresentam maior resistência, durabilidade e são facilmente manuseadas (Braddock e O'Mahony 1999). Mudanças nos hábitos individuais e sociais da população conduziram à introdução de novos têxteis que correspondessem às suas necessidades. Assim, o envelhecimento da população e o aumento do consumo de roupas de desporto, por exemplo, levaram à introdução de têxteis funcionais (McCann et al. 2005).

A indústria têxtil representava em 2001 a segunda maior atividade do mundo. Em Portugal, os principais distritos onde há desenvolvimento no setor têxtil são Porto, Braga, Aveiro e Lisboa, sendo a região Norte (Porto e Braga) a representar cerca de 80% das empresas, empregos e volume e negócios (Banco de Portugal 2012; Retail Forum to sustainability 2013). De acordo com a ATP, em 2012, a indústria têxtil continua a ser das indústrias mais importantes para a economia portuguesa (Associação Têxtil e Vestuário de Portugal 2013)

Ao longo dos últimos anos a indústria têxtil na Europa tem sofrido alterações devido às mudanças tecnológicas, evolução dos custos de produção nos diferentes setores e ao aparecimento de concorrentes internacionais (Associação Empresarial de Portugal 2011). O surgimento de concorrentes internacionais como a China, Índia e Paquistão tornou as empresas europeias mais competitivas, fabricando produtos mais simples e reduzindo a

Atividade antimicrobiana em têxteis

produção em grandes quantidades, permitindo assim uma maior variedade de produtos (Associação Têxtil e Vestuário de Portugal 2013).

O futuro dos têxteis inclui desenvolvimento de novas fibras e tecidos através do envolvimento de diferentes áreas como a ciência, tecnologia e têxtil (Braddock e O'Mahony 1999). O desafio atual para o setor têxtil é a capacidade de unir a ciência e a indústria têxtil (Montgomery 2010).

O calçado apareceu devido à necessidade que o Homem sentiu de proteger os seus pés e os primeiros registos do seu uso datam do período Magdaliense (15 000- 12 000 a.C.) (Ribeiro 2010). Durante vários anos o calçado foi considerado um produto simples. No entanto, nas civilizações mais antigas começou a ser utilizado para diferenciar socialmente a população, passando a ser um símbolo de poder e riqueza. Por exemplo, no Egito apenas o faraó e os seus representantes podiam usar sandálias trabalhadas com fios de ouro e pedras preciosas (Matos 2014).

O calçado ganhou uma nova dinâmica após a revolução industrial, uma vez que nesta época foi abandonada a produção manual e o calçado passou a ser produzido em série, tendo como consequência a redução de custo. No século XX os artesãos passaram a ser conhecidos por criadores ou estilistas. O calçado passou a ter uma aparência mais funcional e com um aspeto mais próximo do que atualmente conhecemos, tornando-se possível distinguir o esquerdo do direito (Matos 2014).

O calçado, que inicialmente tinha apenas uma função protetora, passou a ter alterações que permitiram a adaptação a atividades ligadas por exemplo ao trabalho, ao desporto ou simplesmente aplicações que permitem diferenciação a nível social (Ribeiro 2010).

A qualidade do calçado português tem vindo a ser reconhecida por diversos países, o que tem aumentado as exportações nos últimos anos, como evidenciado na tabela 1.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 1: Números de produção, exportações, importações e consumo de calçado no ano de 2012 (adaptado de APICCAPS 2014).

Milhares de pares	Produção	Exportação	Importação	Consumo
Calçado de senhora	27 119	24 278	2 713	5 554
Calçado de homem	21 770	19 368	1 922	4 324
Calçado de criança	5 721	5 227	1 626	2 120
Calçado unissexo	1 485	1 394	797	888
Calçado de segurança	1 034	987	708	756
Calçado de desporto	740	714	585	611
Outro calçado em couro	1 099	1 043	696	753
Subtotal calçado em couro	58 969	53 010	9 046	15 005
Calçado em têxtil	3 782	4 997	14 579	13 544
Calçado impermeável	3 696	3 668	991	1 019
Outro calçado em plástico	3 985	5 880	21 335	19 460
Calçado em outros materiais	3 724	3 419	2 453	2 758
Total	74 156	70 974	48 605	51 787

O tipo de consumidor e o consumo de produtos têxteis e calçado está em mudança e a indústria preocupa-se em satisfazer o consumidor, assim como respeitar as exigências ambientais e éticas (Montgomery 2010).

3. Os Têxteis

3.1 Material têxtil

A transformação das matérias-primas têxteis em produtos finais obriga a que haja uma grande produção de produtos intermédios, principalmente fibras, fios e tecidos que são submetidos a intervenções sucessivas como a fiação, transformação em fibras têxteis e acabamentos (Gomes et al. 2005).

As fibras têxteis são caracterizadas pela sua elasticidade, finura e imenso comprimento em relação à dimensão transversal máxima, sendo que cada uma é adequada para diferentes aplicações em têxteis (Trophicolor Têxteis 2013). Existem fibras contínuas e fibras descontínuas, sendo o comprimento a principal diferença entre elas. As fibras contínuas têm um grande comprimento, enquanto que as fibras descontínuas têm o comprimento limitado a alguns centímetros. O comprimento é apenas limitado por razões técnicas (Trophicolor Têxteis 2013).

As fibras têxteis são classificadas em dois grupos distintos de acordo com a sua origem, podendo ser de origem natural ou não natural (Gomes et al. 2005). As fibras de origem natural são produzidas pela natureza de forma a serem adequadas para o processamento têxtil. Podem ser fibras animais, vegetais ou minerais e a sua produção necessita de uma grande quantidade de água, terreno e energia (Gomes et al. 2005; Roda 2008). As fibras de origem vegetal requerem ainda elevadas quantidades de pesticidas e herbicidas na sua produção, assim como as fibras de origem animal que também necessitam de pesticidas para prevenir eventuais parasitas (Jesus 2011).

As fibras de origem não natural são produzidas industrialmente a partir de polímeros e são subdivididas em dois grupos dependendo da origem dos polímeros, natural ou sintética (Gomes et al. 2005; Roda 2008). As fibras não naturais obtidas a partir de polímeros naturais como a celulose são também conhecidas como fibras regeneradas. As fibras não naturais em que os polímeros são de origem sintética são conhecidas como fibras sintéticas e têm uma origem orgânica (petróleo) (Gomes et al. 2005; Fletcher 2008).

Vários exemplos de materiais usados no fabrico de fibras têxteis são apresentados na ilustração 1.

Determinação da atividade antimicrobiana em têxteis

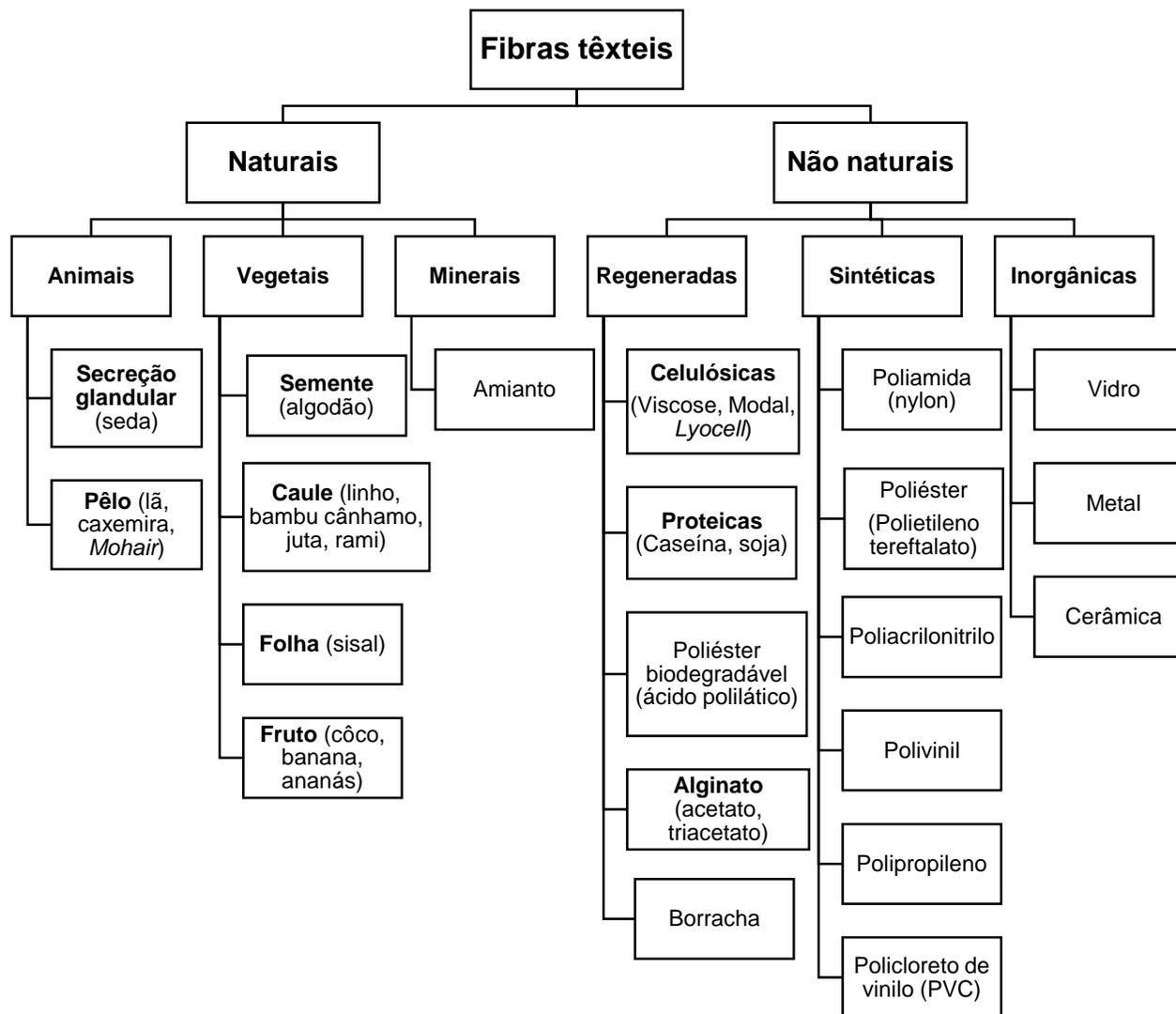


Ilustração 2: Classificação geral das fibras têxteis (adaptado de Gomes et al. 2005; Fletcher 2008).

Atividade antimicrobiana em têxteis

O consumo mundial de fibras têxteis foi variável ao longo dos anos, como demonstrado na ilustração 2. Desde 1992 o maior pico de consumo foi em 2007, tendo sido consumidas em todo o mundo 67 736 milhões de toneladas. A indústria têxtil, acompanhando a recessão que a partir de 2008 assombrou vários países da Europa, baixou o consumo de têxteis tendo tido uma quebra na ordem dos 4,3%. Um novo pico foi observado em 2010, em que foram consumidas 69 728 milhões de toneladas (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura 2013–FAO).

As fibras consumidas também variaram ao longo dos anos. Facilmente se observa que as fibras mais consumidas são o algodão e as fibras sintéticas não celulósicas, sendo que as fibras sintéticas tiveram um grande aumento entre 2006-2010. Para além destas fibras existem outras que são consumidas em menor quantidade como a lã, linho e fibras celulósicas (Ilustração 2 e 3) (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura 2013).

Segundo o estudo da FAO, comparando os dois picos mais evidentes (2007 e 2010), é possível concluir que em 2010 houve uma diminuição do consumo de algodão, lã e fibras celulósicas evidenciando um aumento das fibras sintéticas, relativamente a 2007 (Ilustração 3). O linho foi a única fibra que não sofreu nenhuma alteração nesse período, sendo que o seu pico de consumo foi atingido em 2005 em que o seu consumo rondava 709 toneladas (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura 2013).

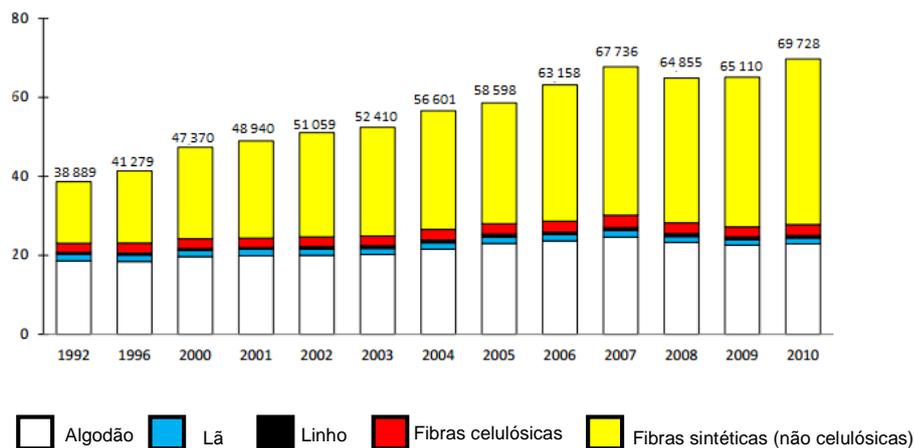


Ilustração 3: Evolução do consumo de fibras têxteis no mundo (milhões de toneladas) (Adaptado de Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura 2013).

Atividade antimicrobiana em têxteis

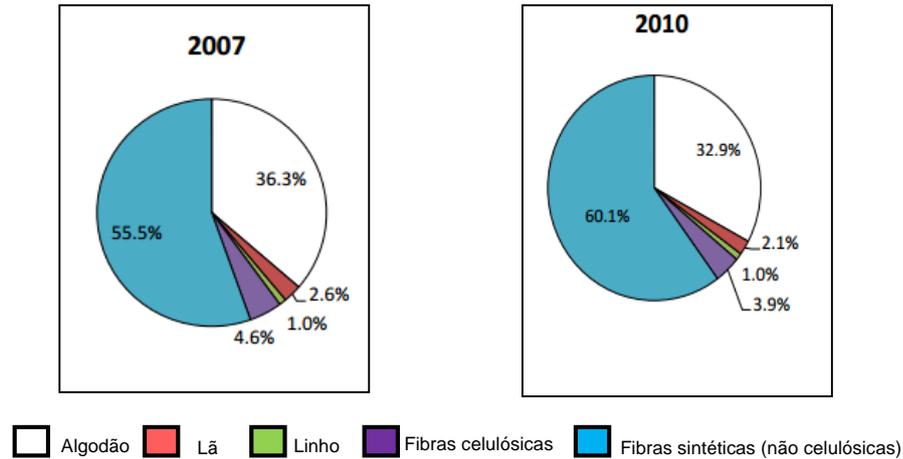


Ilustração 4: Consumo dos diferentes tipos de fibras têxteis no mundo (percentagem) (adaptado de Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura 2013).

Tendo em conta a sustentabilidade e o impacto da produção de fibras naturais e não naturais no meio ambiente, observou-se um aumento na procura de fibras artificiais biodegradáveis à base plantas, as quais são consideradas autossustentáveis, como o poliéster biodegradável (ácido polilático) e fibras de soja (Fletcher 2008).

As fibras têxteis mais utilizadas para o fabrico de vestuário, calçado, equipamento médico e em têxteis-lar são as fibras sintéticas como o nylon e poliéster e as fibras naturais que incluem o algodão, linho, seda e lã (Perera et al. 2013; Walentowska e Flaczyk 2013).

3.1.1 Algodão

O algodão, a fibra natural vegetal mais importante para a indústria têxtil, é usado há mais de 7000 anos. Esta fibra é a única que é constituída por cerca de 90 a 95% de celulose (Mangat 2009).

O algodão é utilizado pela indústria sob a forma de fios, fibras, tecidos e roupas, sendo a formação de tecidos o seu uso principal. Esta fibra está presente em têxteis-lar, têxteis médico-cirúrgicos, roupa interior, roupa desportiva e roupa profissional, como por exemplo, batas. A origem vegetal do algodão torna-o mais suscetível ao ataque por microrganismos, uma vez que apresenta estrutura porosa hidrófila que retém água, oxigénio e nutrientes, criando o ambiente ideal para a sua proliferação. O algodão é das fibras mais suscetíveis aos ataques de bactérias e fungos (Mangat 2009; Gutarowska e Michalski 2012; Boryo 2013).

3.1.2 Lã

A lã é uma fibra natural caracterizada pela sua elevada resistência, isolamento térmico e capacidade de absorver humidade. Esta fibra é capaz de absorver 50% da humidade sem que esta seja sentida. A sua estrutura histológica é complexa sendo constituída por cutícula, membrana celular e córtex. Quimicamente, este polímero biológico é constituído por três tipos de queratinas, as que tem alto teor de enxofre, as que tem baixo teor de enxofre e as que tem alto teor de tirosina. A lã é ainda caracterizada pela sua elevada resistência a alongamentos e fatores ambientais como a biodegradação. No entanto, quando esta fibra é transformada num têxtil sofre processamentos químicos e mecânicos que aumentam a sua suscetibilidade aos ataques por microrganismos. A biodegradação da lã é assinalada pelo aparecimento de manchas, perda de força e libertação de um cheiro característico, a enxofre (apenas em condições anaeróbias). Os microrganismos que conseguem crescer neste polímero e degrada-lo têm capacidades queratinolíticas e proteolíticas (Aluigi et al. 2008; Gutarowska e Michalski 2012; Bharath et al. 2014).

3.1.3 Bambu

O bambu é uma planta cultivada essencialmente na Ásia, cresce rapidamente e pode ser cultivado sem qualquer adição de pesticidas. Na indústria têxtil, as fibras de bambu têm uma aplicação relativamente recente. Para a sua obtenção existem dois métodos, um dos quais é obter a fibra de bambu diretamente da planta de bambu através de métodos químicos e físicos e o outro, é a sua obtenção a partir do bambu artificial em que as fibras são obtidas a partir da celulose do bambu, num processo semelhante ao fabrico da viscose. O segundo método é o mais utilizado para obter fibras de bambu. O bambu é constituído essencialmente por celulose, tal como todas as fibras de origem natural (Yueping et al. 2010).

Esta fibra é considerada sustentável e 100% biodegradável, tem boa absorção de humidade e boa permeabilidade, apresentando ainda um toque suave e propriedades antimicrobianas naturais, ou seja, são adquiridas da própria fibra. Esta última característica despertou o interesse da indústria têxtil e a sua aplicação na indústria ainda se encontra em estudo (He et al. 2007).

3.1.4 Poliéster

As fibras de poliéster são fibras sintéticas que no ano de 2000 dominavam o mundo da indústria têxtil, tendo sido o seu consumo de aproximadamente 18 milhões de toneladas nesse ano. As suas características essenciais são o baixo custo, a facilidade de produção a partir de fontes petroquímicas, a resistência incluindo às lavagens e não se enrugarem facilmente. Estas fibras podem ser utilizadas como fibras contínuas ou descontínuas e a sua aplicação é variável. Podem ser aplicadas em têxteis-lar, roupas de desporto, têxteis de vestuário, entre outros. O poliéster mais utilizado na indústria têxtil é o polietileno tereftalato (PET) (McIntyre 2005; Gutarowska e Michalski 2012). O PET é resistente à biodegradação por fungos e bactérias, contudo, quando exposto durante muito tempo a microrganismos pode ver diminuída a sua resistência e sofrer degradação (Gutarowska e Michalski 2012).

3.2 Processamento do material têxtil

Os têxteis são materiais formados por fibras e apresentam estruturas diferentes de acordo com o material e o método utilizado no fabrico (Roda 2008).

O fabrico de um artigo têxtil inicia-se com a seleção da matéria-prima, nomeadamente as fibras (Vieira, 2006; Roda 2008). Segue-se o processo de preparação da fibra (Gomes et al. 2005), o qual compreende três fases essenciais:

- **Limpeza ou depuração:** consiste na separação da fibra das restantes matérias a que esta possa estar ligada, como por exemplo folhas ou sementes (etapa realizada ao longo de todo o processo).
- **Preparação:** baseia-se na mistura de outros componentes necessários às fibras, de modo a que o produto final fique com as características pretendidas. Esta mistura no final deve ser homogénea.
- **Fiação:** As fibras sofrem o processo de fiação, o qual consiste na sua transformação em fio com o comprimento e massa previamente definidos. Nesta etapa as fibras são ligeiramente torcidas e alongadas simultaneamente, criando assim fio.

As características mais importantes no fio são a resistência, a elasticidade, a torção e o título. A torção permite que as fibras se mantenham juntas durante a formação do fio, podendo ser designada por “S” ou “Z”, dependendo se a torção é para o lado direito ou esquerdo respetivamente. A resistência do fio é dependente da torção aplicada, assim com o aumento da torção aumenta também a resistência do fio até um determinado valor. O

Atividade antimicrobiana em têxteis

título é a relação entre a massa e o comprimento do fio, dando origem à espessura do fio (Gomes et al. 2005).

Após a fiação pode ser realizada a tecelagem ou a tricotagem. A tecelagem consiste na produção de tecido e a tricotagem na produção de malhas. O tingimento e a estampagem são outros processos que podem ser aplicados nos têxteis (Gomes et al. 2005).

Para que o material têxtil esteja preparado para ser utilizado pelo consumidor procede-se à última etapa, os acabamentos. Os acabamentos são operações que permitem dar aos têxteis características adicionais como o brilho, o toque e a cor, entre outros, podendo cada têxtil ser submetido a um ou mais acabamentos (Trophicolor Têxteis 2013).

Existem dois grandes grupos de acabamentos, os mecânicos e os químicos, como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2: Tipos de acabamentos, mecânicos e químicos (adaptado de Troficolor Têxteis 2013).

Acabamentos Mecânicos	Acabamentos Químicos
Gasagem	Lavagem
Cardação	Amaciamento
Mercerização	Antibacterianos
Esmerilagem	Antifúngicos
Laminagem	<i>Anti-pilling</i>
Calandragem	Anti-feltragem
Compactação	<i>Easy care/ Wash and wear/ no iron</i>
Ramolagem	

A transformação que as fibras têxteis sofrem até ao produto têxtil final encontra-se resumida na ilustração 4.

3.3 Têxteis técnicos

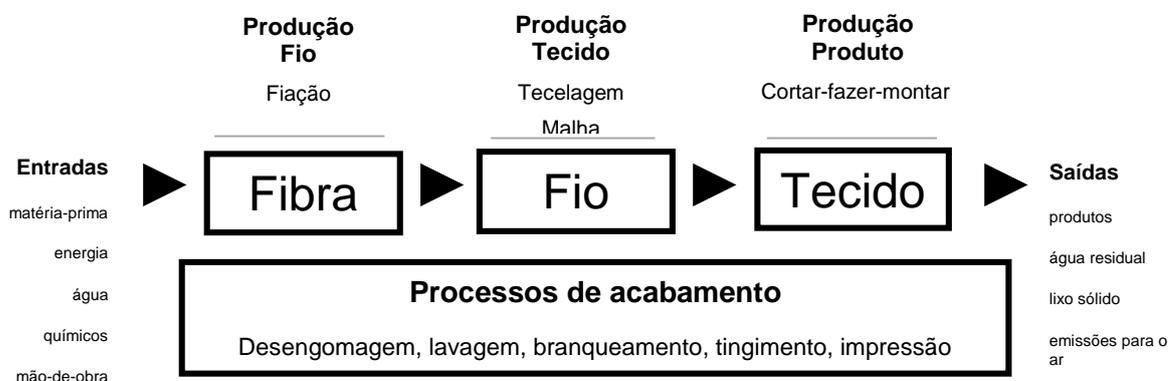


Ilustração 5: Processo de transformação das fibras têxteis num produto têxtil (adaptado de Fletcher 2008).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Os têxteis técnicos são produzidos de acordo com as suas características funcionais e desempenho técnico, ficando as propriedades estéticas para segundo plano. Em suma, é um material fibroso que responde às exigências mecânicas, térmicas, elétricas e de durabilidade que permite a sua adaptação a funções técnicas, como por exemplo têxteis resistentes a chamas. São utilizados normalmente em tecidos, malhas e não tecidos (Horrocks 2000; Carvalho 2004). Estes têxteis englobam diferentes setores da indústria tais como, vestuário de proteção, dispositivos médicos, produtos para cuidados de saúde, materiais de construção, componentes para automóveis, geotêxteis, dispositivos agrícolas e material de desporto (Carvalho 2004).

A maioria dos têxteis técnicos têm uma estrutura bidimensional (2D), no entanto a indústria também já utiliza têxteis técnicos com uma estrutura tridimensional (3D). Embora os têxteis 3D tenham surgido no século XIX, só nas últimas décadas têm sido utilizados. Este tipo de têxteis pode ser aplicado em diferentes áreas como na indústria automóvel, indústria do calçado, em especial nas sapatilhas de desporto, têxteis-lar como colchões e ainda em alguma roupa interior (Yip e Ng 2008). Os têxteis tridimensionais possuem duas camadas distintas (inferior e superior), interligadas por uma camada conectora que se encontra a cerca de 90 graus das outras duas camadas (Bruer et al. 2005).

Os têxteis com propriedades antimicrobianas inserem-se no grupo de têxteis técnicos e têm como principal função a destruição dos microrganismos, principalmente bactérias e fungos, que na presença de humidade podem provocar a descoloração dos têxteis e causar odores desagradáveis. Este tipo de têxteis começou a ser desenvolvido em 1867, quando Lister demonstrou a relação que existia entre as doenças e o material têxtil e, desde então, vários têxteis com diferentes antimicrobianos foram desenvolvidos (Sun e Worley 2005).

A crescente sensibilização dos consumidores para os problemas de saúde e estéticos causados pelo crescimento de microrganismos em materiais têxteis aumentou o consumo de têxteis com propriedades antimicrobianas. Na sequência desse fenómeno, a indústria sentiu necessidade de desenvolver novas estratégias de incorporação de antimicrobianos nos têxteis e de procurar novos produtos com propriedades antimicrobianas, como será abordado ao longo do trabalho (Sánchez 2006).

4. As fibras têxteis: da sua biodegradação à sua proteção

4.1 Principais microrganismos nos materiais têxteis

Os têxteis podem ser expostos a microrganismos durante a produção, o uso ou o seu armazenamento, podendo causar-lhe alterações. Os principais microrganismos responsáveis pelo ataque às fibras têxteis são as bactérias e fungos (Szostak-Kotowa 2004; Heine et al. 2007; Wilkie et al. 2014).

As bactérias são microrganismos procariotas de pequenas dimensões observadas apenas através do microscópio. A sua forma é variável, podendo apresentar-se como bacilos (em forma de bastonete), cocos (forma esférica ou oval), cocobacilos, em forma de vírgula e em espiral (Vasanthakumari 2007). Apresentam uma estrutura simples, no exterior têm ou podem ter, *pili* ou fímbrias (permitem a fixação da bactéria ao meio), cápsula (protege a bactéria), flagelos (têm a forma de hélice e auxiliam na mobilidade bacteriana), parede celular (composta por peptidoglicano, dá forma e rigidez à célula) e membrana citoplasmática (barreira permeável que controla a passagem de materiais para o citoplasma) e no interior contém citoplasma, ribossomas e nucleóide (Vasanthakumari 2007). A parede celular das bactérias permite a sua distinção entre bactérias de Gram-positivo e de Gram-negativo (Pommerville 2011). As bactérias de Gram-positivo apresentam uma parede celular espessa constituída essencialmente por peptidoglicano, elemento importante para a estrutura e sobrevivência em condições adversas (Murray et al. 2010; Pommerville 2011). Estas bactérias contêm ainda ácidos teicóicos e ácidos lipoteicóicos. Os ácidos teicóicos são fatores de virulência bacteriana (Pommerville 2011). Estes ácidos são solúveis em água e constituídos por polímeros aniónicos e fosfatos de polióis que estão ligados ao peptidoglicano (Murray et al. 2010). Os ácidos lipoteicóicos são considerados antigénios de superfície (Murray et al. 2010).

As bactérias de Gram-negativo possuem parede celular mais complexa que as bactérias de Gram-positivo (Murray et al. 2010). A sua parede contém duas camadas externas à membrana citoplasmática. Na camada externa a seguir à membrana celular existe uma fina camada de peptidoglicano, a camada externa é assimétrica e constituída essencialmente por lipopolissacarídeo (LPS) no folheto externo (Murray et al. 2010; Pommerville 2011). O LPS induz a produção de febre, sendo capaz de causar choque séptico (Murray et al. 2010).

A identificação da espécie bacteriana é realizada através da reação ao Gram, forma, mobilidade e testes bioquímicos (Vasanthakumari 2007).

As bactérias para crescerem apresentam variadas exigências nutricionais e ambientais. A nível nutricional as bactérias necessitam de energia, carbono, nitrogénio, fósforo,

Atividade antimicrobiana em têxteis

enxofre, vitaminas, metais e fatores de crescimento orgânicos. Os fatores ambientais necessários ao seu desenvolvimento incluem o pH, oxigênio, temperatura, dióxido de carbono (CO₂), luz e humidade (Vasanthakumari 2007).

Diariamente o ser humano contacta com bactérias, elas existem no próprio Homem, alimentos, água, ar e na roupa. A pele de um indivíduo saudável não contém bactérias patogênicas, uma vez que as bactérias comensais da pele reduzem o pH, criando assim condições para que os microrganismos patogênicos não se consigam alojar (Walter et al. 2014)., em 2008, concluíram que existe uma relação de simbiose entre as bactérias comensais da pele e o ser humano, no entanto quando o Homem tem o seu sistema imunitário debilitado, as bactérias patogênicas conseguem ultrapassar esta barreira e provocar infeções. As infeções bacterianas são uma grande preocupação em várias áreas principalmente em áreas hospitalares porque as bactérias estão mais resistentes aos antibióticos (Muñoz-Bonilla e Fernández-García 2012).

Os têxteis são também uma preocupação para os investigadores, uma vez que diariamente estão em contacto com a pele do Homem em várias situações incluindo ambientes hospitalares (Muñoz-Bonilla e Fernández-García 2012; Romanò et al. 2012). As principais bactérias encontradas no têxtil são *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *S. aureus* e *P. aeruginosa* (Murray et al. 2010).

Os fungos são organismos eucariotas e englobam as leveduras, bolores ou fungos filamentosos e cogumelos (Coad et al. 2014). A parede celular dos fungos é constituída essencialmente por β -glucanos, quitina e mananas (Lipke e Oval 1998). A sua estrutura e composição variam de acordo com a espécie, ciclo de vida e condições ambientais de cada fungo (Bartnicki-Garcia 1968). O ergosterol, presente na membrana celular dos fungos e estabilizador desta bicamada fosfolipídica, é um componente particular da célula fúngica e constitui o alvo preferencial de ação para os antifúngicos (Kalia et al. 2013).

O desenvolvimento de fungos depende de fatores abióticos tais como: quantidade de água, temperatura, pH, oxigênio, CO₂ e luz. O crescimento não depende de um único fator, mas sim dos vários fatores que atuam em simultâneo, tornando as condições ideais para o seu crescimento e proliferação. Os fungos podem ser encontrados na maioria dos nichos ecológicos particularmente no solo (Santos et al. 1998).

A reprodução dos fungos pode ser efetuada por processos assexuados e/ou sexuados, através da formação de esporos ou da fragmentação das hifas que constituem o micélio, e é responsável pela propagação dos fungos (49).

Os fungos são responsáveis por micoses humanas de maior ou menor grau de gravidade, dependendo da localização da infeção, do estado imunológico do indivíduo afetado, do fungo envolvido, entre outros fatores. As micoses mais graves e sistémicas estão normalmente associadas a indivíduos que têm o seu sistema imunitário reduzido

Atividade antimicrobiana em têxteis

(Havlickova et al. 2008). As infecções fúngicas da pele e das unhas são classificadas como micoses superficiais e nas últimas décadas a sua frequência tem aumentado atingindo cerca de 20-25% da população mundial (Heine et al. 2007; Havlickova et al. 2008).

As fibras têxteis encontram-se muitas vezes em contacto com o solo, onde existem fungos como os dermatófitos. Os dermatófitos constituem um grupo particular de fungos filamentosos que se desenvolve à custa da queratina humana ou animal e capazes de causarem infecções nos tecidos queratinizados, dando origem às dermatofitoses ou tinhas (Barry e Hainer 2003). As dermatofitoses são atualmente um grave problema de saúde pública sendo provocadas por fungos do género *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton* (Sajomsang et al. 2012). Estes fungos patogénicos proliferam a temperaturas entre os 25°C-28°C e em condições húmidas ou quentes, sendo as roupas apertadas um bom meio de proliferação. *Trichophyton rubrum* (*T. rubrum*) tem sido apontado como o dermatófito mais comum em países desenvolvidos, sendo responsável por cerca de 70% das dermatofitoses, e particularmente da patologia conhecida por pé de atleta (*Tinea pedis*) (Chen e Friedlander 2001; Havlickova et al. 2008; Seebacher et al. 2008). O pé de atleta está também associado a outros dois dermatófitos, *Trichophyton mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum*. (Havlickova et al. 2008). As infecções causadas por dermatófitos podem ser transmitidas de pessoa para pessoa, de animais para pessoa ou indiretamente através do contacto com objetos contaminados. O contacto direto da pele com têxteis contaminados como meias, toalhas, sapatos e roupa da cama são considerados parte da cadeia de infeção (Hammer et al. 2012). Recentemente foi demonstrado que *T. rubrum* consegue transferir-se de superfícies contaminadas para não contaminadas. Foi demonstrado que o contacto de têxteis contaminados com têxteis não contaminados, durante o armazenamento no cesto de roupa suja ou a lavagem a baixas temperaturas, permite a sua proliferação, sendo este estudo relevante para a população que tem pé de atleta. O dermatófito pode ficar alojado nos têxteis, por exemplo nas meias, mesmo após a sua lavagem podendo causar reinfeção (Hammer et al. 2012).

As leveduras, nomeadamente *Candida albicans* (*C. albicans*), estão também implicadas em infecções fúngicas superficiais. *C. albicans* é um patogénico oportunista capaz de originar candidíases cutâneas ou mucocutâneas. Co-infeções entre leveduras e dermatófito, como *Microsporum canis*, podem ocorrer (Jung et al. 2007). A associação de bactérias em casos de micoses superficiais, quer por leveduras quer por dermatófitos, são também uma situação a considerar (Barry e Hainer 2003; Dias et al. 2013).

Para além dos fungos e bactérias referidos, existem outros microrganismos que pertencem a estes dois grupos e são capazes de contaminar as fibras têxteis provocando infecções no Homem, como enumerado na tabela 3.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 3: Principais microrganismos capazes de contaminar diferentes fibras têxteis (adaptado de Gutarowska e Michalski 2012; Muñoz-Bonilla e Fernández-García 2012).

Bactérias	<i>Staphylococcus</i> spp. (<i>S. epidermidis</i>); <i>Bacillus</i> spp. (<i>B. mesentericus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. megaterium</i>); <i>Pseudomonas</i> spp. (<i>P. aureofaciens</i> , <i>P. chlororaphis</i> , <i>P. paucimobilis</i> , <i>P. cepacia</i>); <i>Serratia</i> spp.; <i>Flavobacterium</i> spp.; <i>Corynebacterium</i> spp., <i>Arthrobacter</i> spp.	Linho, Seda, Algodão, Poliamida, Poliuretano e Poliacrilonitrila
Fungos	<i>Aspergillus</i> spp. (<i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. ustus</i> , <i>A. fischeri</i> , <i>A. auratus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>A. proliferans</i> , <i>A. spinulosus</i>); <i>Penicillium</i> spp. (<i>P. funiculosum</i> , <i>P. raistrickii</i> , <i>P. bifforme</i>); <i>Chaetomium</i> spp. (<i>C. cochlioda</i> , <i>C. globusom</i>); <i>Fusarium</i> spp. (<i>F. nivale</i> , <i>F. solani</i>); <i>Rhizopus</i> spp.; <i>Alternaria alternata</i> .	

4.2 Mecanismo de degradação das fibras têxteis por microrganismos

Os fatores que permitem a colonização dos têxteis são diversos e dependentes das características das fibras, da sua degradação e da espessura do fio. As próprias fibras podem criar condições que permitem a aderência dos microrganismos (Szostak-Kotowa 2004; Wilkie et al. 2014). A pele humana também cria condições ideais para a fixação e desenvolvimento de bactérias e fungos, como a produção de suor, o qual cria um ambiente quente e húmido ideal para estes microrganismos (Gao e Cranston 2008). Existem outros fatores que influenciam a degradação das fibras, nomeadamente: o tipo de microrganismo, o tipo de tecido, o grau de cristalinidade e o grau de orientação da fibra têxtil (Gutarowska e Michalski 2012).

Para degradarem as fibras têxteis os microrganismos têm que conseguir aderir às fibras e manter a sua ligação. Assim, a adesão microbiana é o passo inicial para ocorrer a sua degradação (Falkiewicz-Dulik et al. 2010; Sedlarik 2013). A adesão bacteriana é caracterizada por três parâmetros relacionados entre si (Szostak-Kotowa 2004; Sedlarik 2013):

- Bactérias (a estirpe, o crescimento bacteriano, condições nutricionais, carga à superfície);
- Superfície do material (composição química, carga de superfície e tipologia);
- Ambiente circundante (pH, temperatura, humidade, presença de oxigénio, outros compostos orgânicos e inorgânicos).

A adesão bacteriana pode originar a formação de biofilmes. O biofilme é um conjunto de bactérias cobertas por um invólucro que as protege contra as agressões externas. Nos biofilmes as condições são ideais para a reprodução bacteriana podendo atingir 150 mm

Atividade antimicrobiana em têxteis

de espessura (Lackner e Guggenbichler 2013). A formação de um biofilme compreende cinco etapas (Sedlarik 2013) representadas na ilustração 5:

- 1- **Fase inicial:** as bactérias encontram-se à superfície interagindo com a superfície do têxtil (fase reversível);
- 2- **Adesão primária:** ocorre uma fixação estável das bactérias à superfície;
- 3- **Formação de microcolônias:** as bactérias em condições ideais dividem-se e formam novas colônias, aumentando assim o número de gerações;
- 4- **Formação do biofilme:** as bactérias produzem compostos extracelulares, normalmente baseados em polissacarídeo. Toda a superfície é então coberta pelo composto extracelular formando um biofilme;
- 5- **Fase de distribuição:** o crescente aumento de bactérias no interior do biofilme leva à sua rutura, havendo propagação das bactérias pelo ambiente circundante.

Foi demonstrado que a dose letal de antibióticos para eliminar bactérias num biofilme é cem vezes superior à necessária para eliminar bactérias livres. Assim, o biofilme constitui uma proteção para a multiplicação das bactérias, e a sua eliminação é extremamente difícil (Lackner e Guggenbichler 2013; Sedlarik 2013).

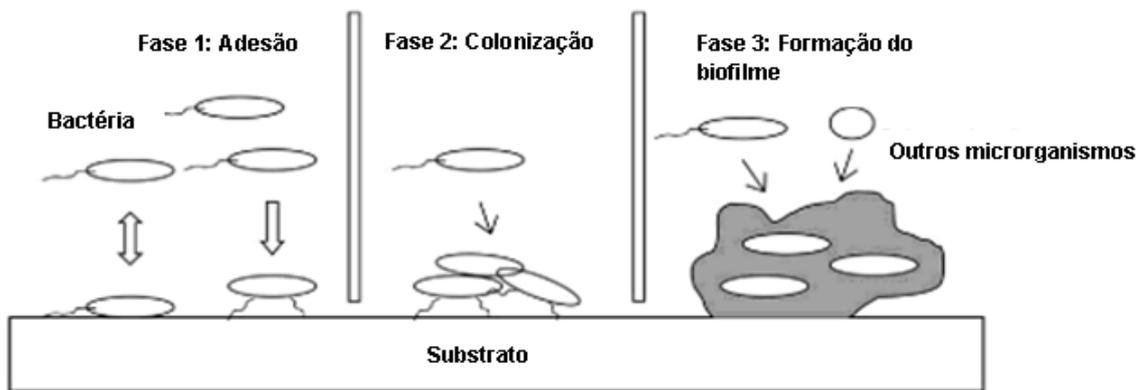


Ilustração 6: Evolução esquemática de um biofilme. Fase 1: adesão primária da bactéria ao substrato; Fase 2: Formação de microcolônias (colonização); Fase 3: Formação do biofilme (adaptado de Ghosh 2006).

De um modo geral, os microrganismos conseguem atacar as fibras têxteis, e outros materiais, de acordo com o esquematizado na ilustração 6:

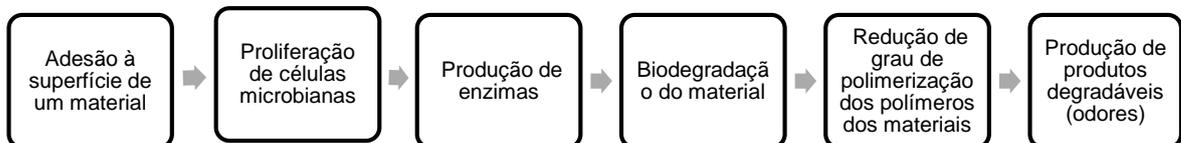


Ilustração 7: Processo de degradação dos microrganismos nos têxteis (adaptado de Falkiewicz-Dulik et al. 2010).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Existem dois mecanismos possíveis para a degradação dos têxteis, a via química em que há produção de amônio, nitrato, sulfureto de hidrogênio e ácidos orgânicos e a via enzimática que envolve a atividade das lipases, esterases, proteases e ureases (Lucas et al. 2008).

A celulose é o principal hidrato de carbono das fibras vegetais e o seu teor nos têxteis depende do tipo de fibra. Por exemplo, no algodão a celulose representa cerca de 94% da sua constituição. Na celulose as várias unidades de glucose podem constituir longas cadeias antiparalelas, formando regiões cristalinas, ou podem dispor-se enroladas, formando regiões amorfas (Gutarowska e Michalski 2012).

A biodegradação da celulose resulta do processo de hidrólise enzimática provocada pelos fungos ou bactérias (Gutarowska e Michalski 2012). Durante o ataque microbiano atuam três tipos de enzimas que hidrolisam a celulose para libertar a glucose. A glucose é usada como fonte de carbono para os microrganismos se desenvolverem. A quebra dos resíduos dissacarídeos nas moléculas terminais, não redutoras da região cristalina, é realizada pela exoglucanase ou celobiohidrolase, sendo esta a primeira enzima a atuar. A segunda enzima, a endoglucanase, quebra os oligossacarídeos da região amorfa de uma forma aleatória. Por fim, a β -D-glucosidase hidrolisa a celobiose, a celotriose e em menor escala alguns oligossacarídeos da glucose (Szostak-Kotowa 2004). A principal função destas enzimas é a diminuição do grau de polimerização, resultando na perda de resistência mecânica dos têxteis (Arshad e Mujahid 2011). A quebra hidrolítica da celulose em fibras naturais só ocorre após a destruição da camada da cutícula (Szostak-Kotowa 2004; Gutarowska e Michalski 2012). A taxa de degradação da celulose está diretamente relacionada com a taxa de cristalinidade. Assim, celulose amorfa é mais suscetível ao ataque microbiano do que celulose cristalina, dependendo ainda de outros fatores como do grau de orientação e da presença de substâncias não celulósicas na fibra (Arshad e Mujahid 2011).

Os tecidos de origem vegetal (natural) são mais suscetíveis ao ataque de microrganismos porque tem uma estrutura porosa hidrófila que retém água, oxigênio e nutrientes, criando o ambiente ideal para a sua proliferação. Os nutrientes podem ter origem nos produtos utilizados no acabamento têxtil, tal como derivados de amido, proteína, gorduras e óleos (Gutarowska e Michalski 2012; Boryo 2013). As fibras não naturais celulósicas têm um baixo grau de cristalinidade e uma elevada capacidade de retenção de água, por isso, e tal como o algodão, são mais favoráveis à degradação por bactérias e fungos (Gutarowska e Michalski 2012).

Os tecidos de origem animal são mais resistentes à biodegradação do que os tecidos de origem vegetal, no entanto os processos químicos e mecânicos a que são sujeitos durante a sua preparação diminuem a sua capacidade de resistirem aos microrganismos

Atividade antimicrobiana em têxteis

(Boryo 2013). As fibras artificiais como o poliéster que são obtidas por polimerização são resistentes à biodegradação (Gutarowska e Michalski 2012).

Os microrganismos podem degradar todo o têxtil ou deteriorar apenas uma pequena área, no entanto, mesmo que a destruição seja só na superfície da fibra rapidamente aparecem manchas ou odores desagradáveis que indicam a sua presença (Boryo 2013).

4.3 Importância dos acabamentos antimicrobianos nos têxteis

O ser humano encontra-se em contacto permanente com um grande e variável número de bactérias, fungos e vírus. Estes microrganismos, na sua maioria patogénicos, podem existir na água, solo, alimentos e também nos materiais têxteis que contactam diretamente com a pele do Homem. As doenças consideradas infecciosas são responsáveis por um elevado número de mortes e assumem um papel preponderante na área hospitalar onde se regista o maior número de infeções (El-Rafie et al. 2005).

As fibras têxteis são um excelente meio para a proliferação de microrganismos e ao longo das últimas décadas a ciência dedicou-se à pesquisa de antimicrobianos e fabricação de materiais com propriedades antimicrobianas para diversas áreas como os têxteis, dispositivos médicos, produtos higiénicos e usados nos cuidados de saúde (Islam et al. 2013; Ravindra et al. 2010; Yusuf et al. 2012).

O algodão como referido anteriormente, é mais suscetível aos ataques microbianos que as fibras sintéticas. No entanto são estas as fibras escolhidas para fabricar, por exemplo roupas interiores e roupas de desporto. Por esta razão no algodão são aplicados diversos produtos antimicrobianos para melhorar a sua resistência aos microrganismos (Ravindra et al. 2010; Walentowska e Flaczyk 2013).

A proliferação microbiana compromete a estética, a higiene e funcionalidade do material têxtil e, para além destes inconvenientes, pode ainda provocar doenças no consumidor (Gao e Cranston 2008; Walentowska e Flaczyk 2013).

As infeções são uma constante preocupação, de forma a combater as infeções com provável origem nos materiais têxteis foram desenvolvidos antimicrobianos. A sua aplicação em têxteis não é recente, na antiguidade os Egípcios usavam especiarias e ervas para proteger as teias das múmias (Islam et al. 2013).

4.3.1 Têxteis hospitalares e cirúrgicos

Os hospitais são considerados os locais ideais para a propagação de microrganismos e os têxteis estão presentes em diversas áreas das unidades de saúde, podendo ser uma importante fonte de contaminação entre profissionais de saúde e utentes (Ahmed et al. 2014; Walter et al. 2014).

Devido ao estado débil da maioria dos pacientes que se encontram em unidades de saúde, nomeadamente em hospitais, as infeções podem ser transmitidas entre pacientes. Os procedimentos cirúrgicos invasivos são apontados como novas portas de entrada aos microrganismos (Gomes 2004). Em ambiente hospitalar a transmissão de infeções é essencialmente por via aérea, podendo ocorrer também por contacto direto ou indireto através de materiais contaminados como, por exemplo, as luvas (quando não trocadas entre pacientes) (Borkow e Gabbay 2008) .

Vários estudos mostraram que superfícies contaminadas nos cuidados de saúde podem causar contaminações cruzadas podendo estar associadas à transmissão de organismos patogénicos (Pyrek 2013). A propagação da hepatite e do HIV através do contacto com materiais contaminados foi um impulso para o reconhecimento da necessidade de usar e desenvolver produtos têxteis com características antimicrobianas (Islam et al. 2013).

O ser humano dissemina constantemente microrganismos, uma investigação sobre um surto provocado pelo vírus *Norwalk* em 1983, revelou que a cama onde os pacientes foram tratados era um fator de risco para a propagação da patologia (Gustafson et al. 1983). Atualmente sabe-se que a proliferação de microrganismos no pijama e nos próprios lençóis de pacientes internados em unidade de saúde é elevada. Estes microrganismos podem transmitir-se através de aerossóis ou através do contacto direto (Borkow e Gabbay 2008).

Em 2000 Neely e o seu colaborador, procuraram determinar o tempo de sobrevivência de bactérias de Gram-negativo em tecidos e plásticos utilizados diariamente nos hospitais. Utilizou sete tipos de amostras que incluiu toalhas, roupas de algodão, fardas, cortinas, fatos de compressão, aventais plásticos e protetores de teclados, que foram inoculados com as bactérias *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter* spp. e *Enterobacter* spp. Concluíram que a sobrevivência dos microrganismos nos diferentes materiais era dependente da bactéria, do inóculo e do material testado (Neely e Maley 2000).

Noskin e os seus colaboradores, também em 2000, avaliaram a sobrevivência de enterococos resistentes à vancomicina (VRE) em 10 cadeiras de diferentes tecidos, para determinar qual seriam os melhores estofos para utilizar em áreas de saúde. Neste estudo concluíram que os VRE têm uma elevada taxa de sobrevivência e que podem ser transferidos para as mãos e ambiente, servindo de reservatório para a transmissão de

Atividade antimicrobiana em têxteis

infecções associadas a cuidados de saúde (IACS) (Noskin et al. 2000). As cortinas utilizadas para separar as camas dos utentes nas enfermarias têm-se revelado também uma preocupação. Um estudo realizado por Ohl e os seus colaboradores em 2012, com o objetivo de determinar a prevalência e o tempo de sobrevivência das bactérias. Concluíram que 92% dos cortinados estudados tinham contaminação ao final de uma semana, incluindo a presença das bactérias MRSA e VRE (Ohl et al. 2012).

A preocupação dos profissionais de saúde centra-se essencialmente nas IACS, estimando-se que 5% de todos os pacientes internados são contaminados durante o internamento. Estas infeções são provocadas essencialmente por *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (Panlilio et al. 1992).

As IACS são consideradas uma ameaça porque as bactérias MRSA e VRE entre outros têm aumentado nos Estados Unidos e na Europa. Estes microrganismos conseguem persistir durante meses em superfície tornando-se uma fonte contínua de transmissão (Borkow e Gabbay 2008). Os surtos hospitalares de infeções por *S. aureus* e MRSA têm ocorrido essencialmente em salas de cirurgia, cuidados intensivos, unidade de queimados e unidades de ortopedia (Borkow e Gabbay 2008)

Os fungos também estão presentes nas unidades de saúde e Neely e Orloff em 2001, no seu estudo procuraram perceber se tecidos e plásticos poderiam funcionar como reservatórios para os fungos como *C. albicans*. Determinaram a capacidade dos fungos para sobreviver em cortinas, toalhas, protetores de teclado, aventais de plástico e fardas. Estes investigadores concluíram que *Aspergillus* e *Mucor* sobreviveram 26 dias, *Candida*, *Fusarium* e *Paecilomyces* sobreviveram durante 5 dias. Dentro do género *Candida*, *C. parapsilosis* resistiu durante 30 dias e *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* tiveram um tempo médio de vida de 1-4 dias. Concluíram ainda que os fungos se mantêm viáveis durante cerca de 19,5 dias em materiais sintéticos como poliéster, polietileno e poliuretano e cerca de 5 dias em fibras naturais como o algodão (Neely e Orloff 2001).

Estes estudos mostraram a importância do uso de matérias têxteis com propriedades antimicrobianas em ambiente hospitalar. Borkow e os seus colaboradores, em 2008, já tinham reconhecido que as taxas de infeções hospitalares, principalmente por bactérias resistentes a antibióticos, estão a aumentar e que o uso de têxteis antimicrobianos pode reduzir significativamente a carga microbiana nestes ambientes e consequentemente diminuir as IACS.

4.3.2 Têxteis de vestuário profissional

O vestuário profissional é considerado “todo aquele equipamento destinado a ser envergado por colaboradores de uma instituição ou empresa, apenas e somente durante o período de trabalho, de forma a resguardar e proteger dos riscos suscetíveis de construir uma ameaça à sua segurança, higiene e saúde durante o exercício das suas atividades” (Valério et al. 2013).

Diferentes estudos têm sugerido que há contaminação nas roupas dos profissionais de saúde, nomeadamente em batas e fardas, sendo apontados como vetores de contaminação (Pyrek 2013).

Morgan e os seus colaboradores, em 2012, procuraram avaliar o papel da contaminação ambiental na transmissão de bactérias multirresistentes nos profissionais de saúde. O seu estudo incluiu diferentes profissionais de saúde como enfermeiros, fisioterapeutas, médicos, terapeutas ocupacionais e técnicos de ação médica. Concluíram que dos 585 contactos entre paciente e profissionais de saúde, 120 resultaram em infeções provocadas pelas luvas ou pelo vestuário de proteção (Morgan et al. 2012). Nesse estudo, a bactéria *Acinetobacter baumannii* foi a encontrada com maior frequência (32,9%), seguida de *P. aeruginosa* (17,4%), VRE (13,9%) e por fim os MRSA (13,8%).

Um outro estudo, realizado também em 2012 por Munoz-Price e seus colaboradores, com objetivo de determinar a contaminação entre as mãos dos profissionais de saúde e o seu vestuário de proteção (batas e fardas), mostrou que havia crescimento bacteriano em 103 mãos, ou seja, em cerca de 86% dos profissionais testados. As bactérias encontradas foram *S. aureus* (11%), *Acinetobacter* spp. (6%), Enterococos (2%) e bactérias da flora comensal da pele (70%). A presença destes microrganismos nas mãos foi associada a uma maior probabilidade de presença desses mesmos microrganismos nas batas (Munoz-Price et al. 2012).

Outros investigadores concluíram que 60% do vestuário hospitalar se encontra colonizado por bactérias patogénicas, incluindo bactérias resistentes a antibióticos (Pyrek 2013). Estudos anteriores já tinham demonstrado a presença de bactérias neste tipo de vestuário ao avaliarem as fardas de 57 enfermeiros em 5 áreas hospitalares diferentes e que assistiram utentes com MRSA, VRE e *Clostridium difficile* (Perry et al. 2001). Os vestuários de proteção foram avaliados no tempo zero, ou seja no início do turno, e no final. Os autores concluíram que no final do turno, 31 das amostras, ou seja 54%, foram positivas para uma ou mais bactérias (Perry et al. 2001). Osawa e colaboradores, no seu estudo de 2003, concluíram que 79% das batas se encontravam colonizadas por MRSA (Osawa et al. 2003).

Atividade antimicrobiana em têxteis

O uso de têxteis antimicrobianos, mesmo no vestuário de proteção, permite reduzir a carga microbiana possivelmente existente (Pyrek 2013). Um estudo de Mariscal e colaboradores, em 2011, avaliou a ação antimicrobiana de um tecido tratado com prata para uso em ambientes de cuidados de saúde tendo os autores concluído, que ao contrário de outros tecidos antimicrobianos usados no setor da saúde, este permitiu reduzir significativamente o número de microrganismos incluindo as bactérias resistentes a antibióticos (Mariscal et al. 2011).

4.3.3 Têxteis para calçado

Os pés têm mais glândulas sudoríparas que qualquer outra parte do corpo, produzindo assim uma maior quantidade de suor. De acordo com a literatura o pé humano produz cerca de 2,5 a 3 g de suor por hora e, além disto, os sapatos são geralmente fechados e com pouco permeabilidade ao ar e à água criando as condições ideais para a proliferação de microrganismos. A humidade no interior do calçado pode chegar a 96-100%, e no final de um dia de trabalho as palmilhas podem ser um local com condições ótimas para o desenvolvimento de microrganismos (Peng et al. 2011; Irzmańska et al. 2012; Sánchez-Navarro et al. 2013; Rodriguez et al. 2014).

Os microrganismos que se desenvolvem nas palmilhas dos sapatos, para além dos problemas estéticos que acarretam como o mau odor, podem também comprometer a saúde dos pés. Em pessoas com úlceras devido a doenças crónicas como a diabetes, a presença de microrganismos nos pés pode implicar o desenvolvimento de infeções (Sánchez-Navarro et al. 2013).

Um estudo realizado na Polónia, com cerca de 2000 pessoas, mostrou que mais de 50% da população em estudo tem alterações patológicas na pele dos seus pés, nomeadamente micoses. Os microrganismos observados no calçado são *E. coli*, *S. aureus*, *T. rubrum*, *C. albicans* e *B. subtilis* (Peng et al. 2011; Irzmańska et al. 2012).

Estudos epidemiológicos realizados pela União Europeia revelaram a necessidade das palmilhas conferirem propriedades antimicrobianas de forma a impedir o desenvolvimento de microrganismos na interior do calçado (Irzmańska et al. 2012).

O desenvolvimento de pé de atleta ocorre essencialmente em locais com bastante humidade e, por isso, é de esperar o seu aparecimento em situações de meias e calçados húmidos, principalmente em calçado desportivo (Teufel et al. 2010). A solução para evitar o desenvolvimento de infeções fúngicas é o uso de agentes antimicrobianos, tanto no calçado (palmilhas) como nas meias. O calçado deve ainda ter condições para que a temperatura e a humidade no seu interior não seja superior a 28°C-34°C e 60-65%

Atividade antimicrobiana em têxteis

respetivamente, ou seja, deve haver um controlo do microclima no interior do calçado. O suor é um parâmetro mais dificilmente controlável, uma vez que varia de indivíduo para indivíduo, bem como a sua atividade ao longo do dia (Hammer et al. 2012; Irzmańska et al. 2012).

4.4 Requisitos para um tratamento antimicrobiano

As fibras têxteis são na sua maioria atacadas pelos microrganismos quando há presença de humidade e por isso, a indústria implementou como medida preventiva do problema o controlo da humidade. Contudo, esta medida não se mostrou eficiente/suficiente, tendo sido necessária a introdução de antimicrobianos na indústria têxtil com o objetivo de reduzir o crescimento e transmissão de microrganismos (Puwar e Joshi 2004; Uddin 2014).

O tratamento antimicrobiano num têxtil deve cumprir os seguintes objetivos: controlar a proliferação dos microrganismos; impedir a descoloração e formação de manchas; a perda de qualidade dos têxteis e evitar a formação de odores e infeções por microrganismos patogénicos (Ristić et al. 2011; Pannu 2013).

Alguns têxteis exigem um elevado nível de eliminação de microrganismos, requerendo o uso de um antimicrobiano de largo espetro, enquanto noutros apenas é necessária a redução de microrganismos ativos. A velocidade de eliminação dos microrganismos depende da aplicabilidade, podendo ser rápidos (segundos) ou lentos (horas) (Esteves 2009). Os compostos antimicrobianos aplicados em materiais têxteis devem apresentar uma baixa toxicidade para os consumidores, ser eficientes contra um amplo espetro de microrganismos e eliminar seletivamente os microrganismos indesejados. Devem ainda cumprir a legislação, sendo necessário realizar testes de citotoxicidade antes de serem comercializados (Ye et al. 2006; Gao e Cranston 2008). Os antimicrobianos também devem ter um efeito durável aos processos de lavagem, secagem e engomagem, sendo este o maior desafio da indústria. Os têxteis passam inúmeras vezes pelos processos anteriormente referidos ao longo da sua vida (Ye et al. 2006; Gao e Cranston 2008).

Outros critérios para a seleção do antimicrobiano são o baixo custo, não produzir substâncias nocivas para o meio ambiente, manter a aparência e qualidade do têxtil e ser compatível com o processamento têxtil habitual (Gao e Cranston 2008; Ristić et al. 2011). Por fim, os acabamentos antimicrobianos não devem eliminar a flora comensal da pele, uma vez que os microrganismos existentes na pele reduzem o pH, criando um ambiente desfavorável para microrganismos patogénicos, e a sua eliminação pode ser prejudicial para o consumidor (Elsner 2006; Ye et al. 2006).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Os requisitos para a seleção do antimicrobiano dependem ainda da utilização final do produto. Nos têxteis que estarão em contacto com a pele é importante ter atenção à toxicidade do antimicrobiano, enquanto no caso de têxteis exteriores, por exemplo toldes, é importante a foto estabilidade do composto usado (Windler et al. 2013).

Os antimicrobianos podem uma função “cida” ou “estática” sobre os microrganismos, em que no primeiro caso ocorre a morte e no segundo há apenas uma paragem ou inibição do crescimento (Windler et al. 2013; Patel e Desai 2014). Existem diversos tratamentos antimicrobianos que são aplicados nos diversos têxteis, tal como evidenciado na ilustração 7.

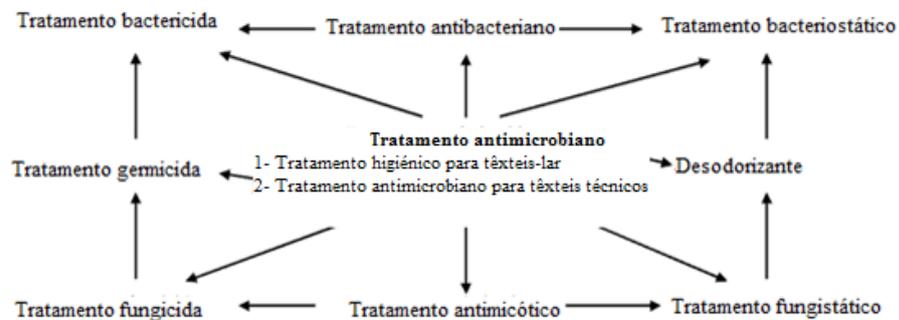


Ilustração 8: Diagrama de tratamentos antimicrobianos aplicados nos têxteis (adaptado de Ramachandran et al. 2004).

O efeito de cada tratamento antimicrobiano encontra-se descrito na tabela 4.

Tabela 4: Tratamentos antimicrobianos aplicados em têxteis (adaptado de Troficolor Têxteis 2013).

Tratamento	Efeito
Tratamento bactericida	O principal efeito é a destruição das bactérias.
Tratamento bacteriostático	Inibe o crescimento das bactérias já presentes sem causar a sua destruição.
Tratamento antibacteriano	Inclui o tratamento bactericida e o tratamento bacteriostático.
Tratamento fungicida	Utiliza substâncias que eliminam os fungos presentes.
Tratamento fungistático	Inibe o crescimento dos fungos já presentes sem causar a sua destruição.
Tratamento antimicótico	Inclui o tratamento fungicida e fungistático.
Tratamento germicida	Destrói os germes.
Tratamento desodorizante	Previne o desenvolvimento de odores.

4.5 Métodos de aplicação dos antimicrobianos nos materiais têxteis

Existem diversas possibilidades químicas e físicas para a produção de têxteis antimicrobianos, mas a sua aplicação depende do agente ativo e do tipo de fibra em que vai ser incorporado (Gao e Cranston 2008; Shahidi e Wiener 2012).

Os têxteis com propriedades antimicrobianas apresentam vários requisitos, como referido anteriormente, sendo a durabilidade do acabamento antimicrobiano um requisito fundamental devido às múltiplas lavagens a que os têxteis estão sujeitos ao longo da sua vida (Mao e Lawrence 2001). Para aumentar a permanência do composto antimicrobiano, a indústria têxtil recorre a diferentes tecnologias nomeadamente à incorporação do antimicrobiano nas fibras, aplicação à superfície da fibra e ligação química à fibra (ilustração 8) (Gao e Cranston 2008).

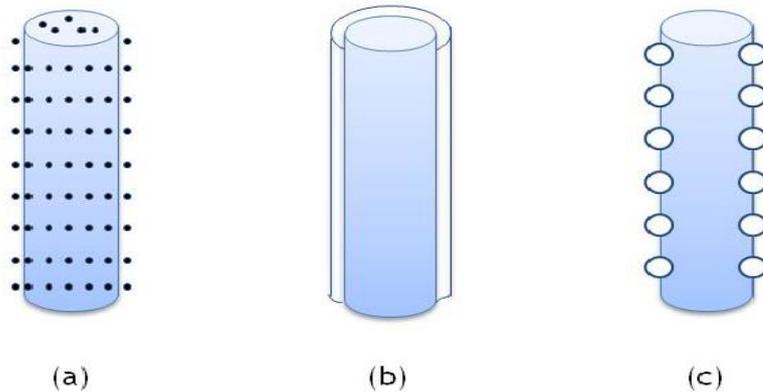


Ilustração 9: Métodos de aplicação dos antimicrobianos nos materiais têxteis. a) O agente antimicrobiano encontra-se incorporado nas fibras; b) aplicado na superfície da fibra; c) ligado quimicamente às fibras (adaptado de Ristić et al. 2011).

No processo de incorporação, o antimicrobiano pode ser adicionado durante os acabamentos ou incorporado na solução de polímeros antes da fiação ou da extrusão por via húmida. A substância ativa encontra-se no interior da fibra têxtil e tem de migrar para a superfície. A sua libertação deve ser lenta, de forma a garantir que fique ativa durante o período de utilização (Gao e Cranston 2008). Este método é adequado apenas para fibras sintéticas (Ristić et al. 2011).

Para aplicar o antimicrobiano à superfície da fibra são utilizados métodos como o *conventional exhaust* (esgotamento) e *pad-dry* (impregnação) (Ristić et al. 2011). Este método tem a vantagem de poder ser aplicado em todos os têxteis, tanto naturais como sintéticos, no entanto, a sua desvantagem é a duração da atividade do antimicrobiano ser dependente da sua afinidade com a fibra (Gao e Cranston 2008; Patel e Desai 2014). No método de impregnação (*pad-dry*) o tecido é imerso numa solução que contém o antimicrobiano e passado pelo foliar que fixa o antimicrobiano e retira o excesso de solução

Atividade antimicrobiana em têxteis

(Patel e Desai 2014). No método por esgotamento (*conventional exhaust*) a aplicação é feita através de jatos ou num tambor de tingimento e o antimicrobiano tem que estar numa determinada quantidade para permanecer o tempo pretendido na fibra (Patel e Desai 2014). As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos com uma superfície exterior hidrófila e um interior hidrofóbico que permite reter um grande número de compostos lipofílicos, dependendo do seu tamanho e peso molecular. Na indústria têxtil estão a ser estudadas para serem aplicadas à superfície de fibras, nomeadamente em fibras de algodão. Alguns estudos mostraram que as CDs quando aplicadas sobre o algodão não alteraram as propriedades hidrófilas da celulose. A sua aplicação contínua em estudo (Shahidi e Wiener 2012).

Na ligação química às fibras têxteis a imobilização do antimicrobiano é total, constituindo um método em que se obtém maior durabilidade da atividade antimicrobiana. Nesta metodologia a inibição ocorre quando há contacto do microrganismo com a superfície do material têxtil e exige o uso de grupos reativos adequados. A maior durabilidade é obtida em fibras celulósicas, lã e fibras sintéticas (Mao e Lawrence 2001). Neste método foram desenvolvidos diferentes procedimentos para aplicar os antimicrobianos nas fibras têxteis tais como, soluções coloidais, nanopartículas, processos sol-gel, reticulação do agente sobre a fibra utilizando um agente de reticulação (Ristić et al. 2011).

4.6 Mecanismo de ação dos antimicrobianos

O mecanismo de ação dos antimicrobianos depende da sua natureza e da concentração da substância ativa, enquanto a sobrevivência dos microrganismos depende do tipo de microrganismo e da integridade da célula (Gao e Cranston 2008).

A concentração de antimicrobiano no têxtil é dependente do tipo de antimicrobiano, da sua finalidade, da estrutura do tecido e do método de impregnação. A concentração mínima inibitória (CMI) verifica a atividade biostática, enquanto a concentração mínima letal (CLM) revela a atividade biocida dos antimicrobianos (Ristić et al. 2011).

Os antimicrobianos exercem a sua ação por um mecanismo que é dependente do antimicrobiano e do microrganismo. Assim, pode ocorrer degradação da parede celular ou inibição do seu metabolismo, bloqueio da reprodução das células, alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática, desnaturação das proteínas ou inibição da síntese de ácidos nucleicos impedindo a ação enzimática, como representado na ilustração 9 (Schindler e Hauser 2004; Gao e Cranston 2008).

Atividade antimicrobiana em têxteis

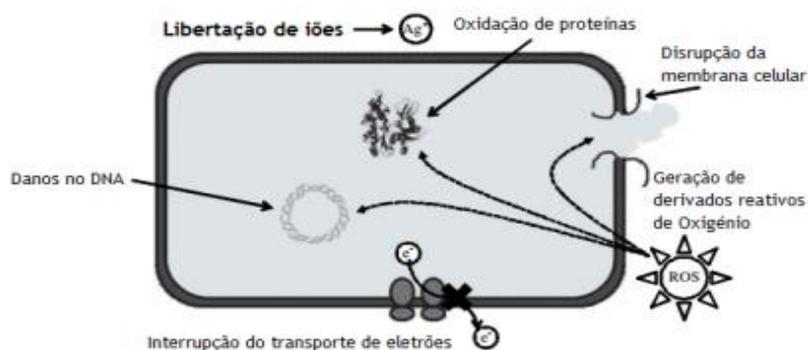


Ilustração 10: Diferentes métodos para a inibição dos microrganismos (adaptado de Li et al. 2008).

Uma célula microbiana contém várias enzimas responsáveis pelo seu metabolismo. A membrana citoplasmática, como referido anteriormente, é semipermeável e permite manter a integridade da célula, controlando seletivamente a passagem de substâncias entre o interior da célula e o exterior. A membrana citoplasmática funciona como uma camada protetora e participa em processos fisiológicos, sendo por isso a sua destabilização, um dos principais mecanismos utilizados pelos antimicrobianos policatiônicos. Estes antimicrobianos afetam a membrana citoplasmática da seguinte forma: adsorção à superfície da célula microbiana, difusão através da parede celular, ligação à membrana citoplasmática, ruptura da membrana citoplasmática, libertação de componentes citoplasmáticos como íons potássio (K^+), DNA e RNA e no final podem levar à morte da célula (Puwar e Joshi 2004; Ristić et al. 2011).

Os agentes antimicrobianos podem atuar de duas formas diferentes, por contacto ou por difusão. Por contacto, as substâncias antimicrobianas estão ligadas quimicamente à superfície da fibra, não existindo a possibilidade de libertação ou migração para as áreas envolventes (Simoncic e Tomsic 2010; Timofeeva e Kleshcheva 2011). A ligação à superfície da fibra permite a maior duração do agente antimicrobiano mas não garante que este mantenha a sua atividade ao longo da vida do têxtil (Simoncic e Tomsic 2010). Este método apresenta as seguintes vantagens: age apenas sobre microrganismos à superfície da fibra, há uma menor possibilidade de desenvolvimento de resistência e apresenta maior duração à lavagem (um antimicrobiano deve resistir, em média, a 40 lavagens) (Timofeeva e Kleshcheva 2011; Patel e Desai 2014). Os antimicrobianos que atuam por contato apresentam algumas desvantagens nomeadamente o uso de produtos químicos que podem afetar a biocompatibilidade, como por exemplo, o glutaraldeído e a epiclórídina. Estes compostos quando usados em têxteis com finalidades médicas afetam a biocompatibilidade entre a fibra e o dispositivo médico. Podem ainda bloquear os grupos funcionais responsáveis pela ação antimicrobiana o que o pode tornar inativo, mesmo que presente à superfície (Ristić et al. 2011).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Nos antimicrobianos que atuam por difusão, as substâncias são libertadas de forma controlada no interior da fibra ou na superfície do tecido, sendo conhecidas por *leaching* e o antimicrobiano não se encontra quimicamente ligado às fibras. Nesta técnica o principal objetivo é prevenir a deterioração do têxtil. Este método permite a eliminação dos microrganismos na superfície da fibra assim como no meio envolvente. É considerado um método eficiente quando aplicado na superfície da fibra. Contudo, como os compostos antimicrobianos têm de migrar do local onde foram aplicados para o exterior do tecido há diminuição da eficácia e duração do tratamento (Puwar e Joshi 2004; Ristić et al. 2011; Timofeeva e Kleshcheva 2011). Os compostos antimicrobianos podem ser aplicados antes ou durante o processo de fiação (Schindler e Hauser 2004; Simoncic e Tomsic 2010; Ristić et al. 2011). Este tratamento apresenta como desvantagens a possibilidade de afetar a flora bacteriana normal da pele, dar origem a alergias, erupções cutâneas e/ou irritações e possui pouca duração a lavagens, pois não se encontra ligado à fibra. Como se liberta na água pode eliminar a flora existente nas águas residuais necessárias para o seu tratamento e há maior probabilidade de desenvolvimento de resistência (Schindler e Hauser 2004; Simoncic e Tomsic 2010; Ristić et al. 2011).

4.7 Compostos antimicrobianos nos materiais têxteis

De acordo com a literatura, os agentes antimicrobianos são classificados de diferentes formas de acordo com o mecanismo de ação do composto, da eficiência, da composição química e da resistência à lavagem (Dring 2003; Schindler et al. 2004).

Nas últimas décadas observou-se um grande desenvolvimento de agentes antimicrobianos que conferem atividade antimicrobiana, no entanto a maioria destes agentes tem o mecanismo de ação por difusão, e portanto a concentração ativa diminui gradualmente ficando abaixo da CMI, e libertam para o ambiente substâncias tóxicas. Atualmente foram desenvolvidos antimicrobianos que, devido ao seu mecanismo de ação e às suas propriedades, não libertam substâncias tóxicas para o ambiente nem para o consumidor como o triclosano e agentes bioativos naturais. Estes últimos estão a conquistar a indústria têxtil devido às suas características e boa capacidade antimicrobiana (Murugesh Babu e Ravindra 2015). Alguns destes antimicrobianos serão descritos a seguir.

4.7.1 Compostos antimicrobianos sintéticos

Os agentes mais utilizados na indústria têxtil são os compostos químicos e portanto acarretam riscos para o ambiente e para o Homem. A utilização destes compostos pode dar origem a resistências aos antimicrobianos e à poluição dos efluentes devido às elevadas quantidades de compostos químicos aplicados nos têxteis e à baixa ligação com as fibras têxteis, o que permite a sua libertação durante as lavagens (Gouveia 2010; Ristić et al. 2011).

Segundo a diretiva 98/8/CE os antimicrobianos químicos pertencem à categoria II e incluem 134 substâncias ativas. As substâncias ativas que podem ser utilizadas na indústria têxtil são subdivididas em 8 grupos de compostos químicos, nomeadamente: compostos inorgânicos, compostos de azoto, fenol e os seus derivados, compostos de halogéneo e os seus derivados, compostos oxidantes, álcoois, aldeídos e ácidos orgânicos e seus derivados (Gutarowska e Michalski 2012).

Os antimicrobianos sintéticos/químicos abordados a seguir são: metais e sais metálicos, polihexametileno de biguanida (PHMB), triclosano, N-halamina, composto de amónio quaternário (QCAs) e corantes sintéticos.

a) Metais e sais metálicos

Os metais como o cobre, zinco, cobalto, cádmio e mercúrio são bons agentes antimicrobianos e a indústria têxtil tem aplicado estes metais em produtos têxteis para lhes conferir atividade antimicrobiana, uma vez que são metais pesados e mesmo em baixas concentrações são tóxicos para os microrganismos. Apesar das características destes metais, o mais utilizado é sem dúvida a prata. Este metal tem sido explorado pela indústria têxtil, no entanto as cores do têxtil são afetadas de forma negativa pela prata (Gao e Cranston 2008; Ristić et al. 2011). As nanopartículas de prata são um método utilizado pela indústria têxtil para eliminar os microrganismos. A prata quando entram em contato com a humidade da pele ou com fluidos de uma ferida, liberta os iões de prata que danificam o RNA e o DNA bacteriano impedindo assim a replicação (Ristić et al. 2011). Nas fibras sintéticas as nanopartículas de prata podem ser aplicadas antes da extrusão, enquanto nas fibras naturais só pode ser aplicado na fase de acabamento e, por isso, estão ser estudadas várias estratégias para aumentar a absorção e durabilidade destes compostos em fibras naturais (Shahidi e Wiener 2012). A prata apesar de ser apontada como um bom antimicrobiano, em vários estudos foi evidenciada a preocupação com as resistências bacterianas (Ristić et al. 2011).

Atividade antimicrobiana em têxteis

b) Polihexametileno de biguanida (PHMB)

Os compostos de PHMB são aminas poliméricas catiónicas com atividade biocida conhecida (Simoncic e Tomsic 2010). São aplicados como desinfetante em piscinas e como antissépticos em hospitais e indústrias alimentares. A sua aplicação como antimicrobiano em têxteis está indicada para materiais à base de celulose como fibras de algodão e lã (Shahidi e Wiener 2012). Estes compostos são eficazes contra bactérias de Gram-positivo, de Gram-negativo e fungos. A sua aplicação em fibras têxteis é realizada por esgotamento ou por impregnação (Gao e Cranston 2008; Ristić et al. 2011). Estes compostos atuam na parede celular das bactérias causando a sua rutura. A sua característica antimicrobiana já era bastante conhecida noutros campos e atualmente já existem pensos de feridas comerciais à base de PHMB (Ristić et al. 2011).

c) Triclosano

O triclosano (2,4,4-tricloro-2-hidoxidifenil éter) é um composto fenólico que inibe o crescimento microbiano, essencialmente por inibição da síntese de ácidos gordos e enzimas. Este antimicrobiano é utilizado essencialmente na proteção dos filtros industriais e como acabamento têxtil é usado em meias, toalhas e têxteis-lar. A sua incorporação nas fibras tem sido feita com uso de ciclodextrinas para aumentar a sua eficácia (Ristić et al. 2011). Apesar da sua capacidade antimicrobiana, este composto foi proibido em alguns países da União Europeia, devido à elevada resistência bacteriana observada (Gao e Cranston 2008).

d) N-halamina

Os compostos de N-halamina são desinfetantes de largo espetro e têm sido utilizados no tratamento de água. A sua capacidade antimicrobiana é atribuída às propriedades oxidantes da halanina devido à ligação N-Cl (Gao e Cranston 2008). Nos estudos efetuados, a N-halanina mostrou uma boa capacidade antimicrobiana em fibras de poliéster, algodão e em tecidos sintéticos. Apesar deste composto ser considerado promissor na indústria têxtil o seu odor desagradável, a perda de força e a descoloração dos tecidos tem comprometido a sua utilização pela indústria (Gao e Cranston 2008; Ristić et al. 2011).

Atividade antimicrobiana em têxteis

e) Composto de amónio quaternário (QCAs)

Os compostos de amónio quaternário em particular aqueles que têm cadeias de carbono com 12-18 átomos são utilizados como desinfetante e como bacteriostático em material têxtil. A existência de uma carga positiva no átomo de azoto dos compostos quaternários permite que no microrganismo seja observada uma série de danos na membrana celular e desnaturação das proteínas. Este composto tem ainda a vantagem dos grupos de amónio quaternário ficarem intactos mesmo após a inativação dos microrganismos, mantendo a suas propriedades antimicrobianas. O algodão, lã, poliéster e nylon são os principais têxteis onde este composto é aplicado (Gao e Cranston 2008).

f) Corantes sintéticos

Alguns dos corantes utilizados na indústria para tingir os têxteis têm propriedades antimicrobianas, como é o caso dos corantes metálicos. Por esse motivo, o tingimento e o acabamento antimicrobiano podem ser conseguidos de forma combinada desde que escolhido um corante que apresente dupla função (Gao e Cranston 2008).

Uma série de corantes azo foram desenvolvidos através da reação de derivados de cloreto de sulfenilamido diazónio e quando aplicados em lã e nylon mostram bons resultados tanto para o tingimento como para o efeito antimicrobiano. Uma outra estratégia consistiu em fixar o composto bioativo num corante por meio de ligações covalentes, um exemplo desta estratégia foram os corantes catiónicos, a sua atividade foi diferente de acordo com os têxteis em que foi aplicado (Gao e Cranston 2008).

Na tabela 5 encontram-se resumidos os principais antimicrobianos utilizados pela indústria têxtil, os microrganismos que inibem e os têxteis em que podem ser aplicados.

Tabela 5: Principais antimicrobianos utilizados pela indústria têxtil (adaptado de Gutarowska e Michalski 2012).

Agente antimicrobiano	Espetro de atividade	Têxteis para aplicação
Sais de fosfónio	<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	Algodão
Metacrilato de glicidilo	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Polipropileno
β -Ciclodextrina	<i>S. aureus</i>	
QCAs	<i>E. coli</i>	
Prata e	<i>C. albicans</i>	
Nanopartículas de prata	<i>C. tropicalis</i>	
	<i>S. aureus</i>	Algodão
	<i>E. coli</i>	
	<i>K. pneumoniae</i>	
	<i>Streptococcus faecalis</i>	

Atividade antimicrobiana em têxteis

Nanopartículas de dióxido de titânio e nanopartículas de prata	<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	Lã
Nanopartículas de prata	<i>S. aureus</i>	Seda e Nylon
4-Vinilpiridina	<i>E. coli</i>	Polipropileno e Polipropileno de algodão
N-Halamina	<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	Algodão
Sais de amônio quarternário Sais de fosfônio	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> <i>Shigella</i> spp., <i>Salmonella typhi</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>C. albicans</i> <i>A. flavus</i> , <i>Fusarium oxysporum</i>	Poliuretano
Nanopartículas de prata Óxido de zinco Lidocaína Dióxido de titânio	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	Poliéster, Policloreto de vinil, Acetato de celulose Polipropileno, Policaprolactona e Poliuretano
Óxido de Cobre	<i>S. epidermidis</i>	Fibra de fosfato de vidro
Triclosano	<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	Ácido poliláctico
Tetraciclina e Ciprofloxacina	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>K. pneumoniae</i>	Polipropileno
Cefalosporinas	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i>	Politereftalato de etileno
Clotrimazol e Cetoconazol	<i>C. albicans</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. repens</i> e <i>T. mentagrophytes</i>	Poliamida, Polipropileno e Poliéster

4.7.2 Compostos antimicrobianos naturais

O elevado uso dos antimicrobianos químicos levantou questões ecológicas e os investigadores encontraram nos produtos naturais um recurso para solucionar as essas questões ecológicas. Como são seguros e não tóxicos são uma alternativa principalmente para têxteis médicos e cuidados de saúde (Ristić et al. 2011; Islam et al. 2013).

Os produtos à base de plantas apresentam uma baixa incidência de reações adversas, quando comparados com os produtos químicos, e apresentam um baixo custo, por isso têm sido apontados como a alternativa e chamados de química “verde”. Várias pesquisas têm sido efetuadas de forma a testar os agentes bioativos das plantas (Joshi et al. 2009; Simoncic e Tomsic 2010).

Os antimicrobianos naturais são, na sua maioria, extraídos de plantas como *Aloe vera*, árvore-de-chá, óleo de eucalipto e óleo de tomilho. As plantas produzem diferentes compostos chamados metabólitos secundários. Os metabólitos secundários são responsáveis pelas características das plantas como a cor, aroma, sabor, entre outras.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Alguns dos metabolitos secundários apresentam atividade antimicrobiana, nomeadamente os compostos fenólicos, terpenos e alcalóides. A sua função encontra-se evidenciada na tabela 6. Os compostos fenólicos são o maior grupo com atividade antimicrobiana conhecida, existindo dentro deste grupo subclasses de compostos como os fenóis, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóides e taninos que também apresentam atividade antimicrobiana (Simoncic e Tomsic 2010; Stefanović et al. 2012).

Tabela 6: Principais metabolitos secundários das plantas responsáveis pela atividade antimicrobiana e o seu mecanismo de ação (adaptado de Joshi et al. 2009; Patel e Desai 2014).

Classe	Subclasse	Mecanismo de ação
Fenólicos	Fenol	Degradação da membrana e privação de substrato
	Ácidos fenólicos Quinonas	Inativação das enzimas, ligação às adesinas, e formação de complexos com a parede celular
	Flavonóides Flavonas	Inibição da transcriptase reversa
	Flavonóis Taninos	Ligação com as proteínas, ligação às adesinas, inativação de enzimas, privação de substrato, complexação de iões metálicos, rutura da membrana e formação de complexos com a parede celular
	Cumarina	Interação com o DNA
Terpenóides Alcalóides		Intercalam-se na parede celular ou no DNA
Lectina e polipéptidos		Formam pontes de dissulfureto
Poliacetilenos		Desconhecido

Como a maioria dos compostos identificados são coloridos, a indústria utiliza-os como corantes antimicrobianos sendo os pigmentos utilizados para tingir fibras naturais e sintéticas (Simoncic e Tomsic 2010).

Estes antimicrobianos apresentam como principal desvantagem a fraca resistência à lavagem, uma vez que a maioria dos antimicrobianos naturais utilizados não tem qualquer ligação com a matéria têxtil. Para ultrapassar esta barreira a indústria tem utilizado o método de microencapsulação de forma a aumentar a durabilidade dos antimicrobianos à base de plantas (Ristić et al. 2011).

Existem outros compostos antimicrobianos naturais cuja origem não são as plantas, nomeadamente: aminoácidos, quitosano e corantes naturais.

Atividade antimicrobiana em têxteis

a) Aminoácidos

Os aminoácidos com propriedades antimicrobianas conhecidas são a sericina e a cisteína. A sericina é uma proteína natural derivada do bicho-da-seda que é removida durante a produção de seda. É uma macromolécula com diferentes propriedades entre as quais, resistência a UV, capacidade antimicrobiana, hidratação e capacidade antioxidante (Joshi et al. 2009). A Cisteína é um aminoácido que quando aplicado em produtos têxteis apresenta boa capacidade antimicrobiana contra bactérias de Gram-positivo e de Gram-negativo sem qualquer fator de toxicidade para o Homem. Este efeito antimicrobiano é conseguido através de pontes de dissulfureto entre os grupos tiol e as fibras (Gouveia 2010).

b) Quitosano

O quitosano é o polissacarídeo mais abundante na natureza e é obtido a partir das cascas do camarão e dos crustáceos. Este polissacarídeo tem sido associado à inibição do crescimento de microrganismos. A sua atividade é afetada pela sua massa molecular e grau de desacetilação (Shahidi e Wiener 2012; Murugesh Babu e Ravindra 2015).

As suas propriedades antimicrobianas são associadas à sua natureza policatiónica, a qual permite a interação com os resíduos da superfície da membrana dos microrganismos carregados negativamente. Esta interação provoca grandes alterações na superfície da célula e na sua permeabilidade, levando à dispersão de substâncias intracelulares. As suas características, para além da atividade antimicrobiana, são a não toxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade e a boa capacidade de ligação à água. Estas características têm despertado o interesse dos investigadores e tem sido aplicado em diferentes áreas incluindo na indústria têxtil (Joshi et al. 2009; Shahidi e Wiener 2012; Murugesh Babu e Ravindra 2015).

O quitosano foi aplicado em fibras de lã para testar a capacidade de resistência ao encolhimento dessas fibras. Este composto natural confere ao têxtil resistência ao encolhimento e em paralelo um efeito antimicrobiano, considerando a boa atividade demonstrada a esse nível. (Gao e Cranston 2008).

c) Corantes naturais

Os corantes extraídos de diferentes plantas servem para tingir os têxteis e conferem-lhes propriedades antimicrobianas, sem apresentarem qualquer tipo de toxicidade. A

Atividade antimicrobiana em têxteis

presença de taninos nos corantes confere-lhes uma boa atividade antimicrobiana (Murugesh Babu e Ravindra 2015). Os corantes naturais também podem ser extraídos de insetos, animais e minerais (Ristić et al. 2011). Um exemplo de corante natural é o extraído das folhas da planta *Henna (Lawsonia inermis)*. O corante extraído desta planta apresenta um pigmento vermelho-alaranjado, o qual é designado também de *Lawsonia inermis*. Este corante tem um efeito inibitório sobre bactérias de Gram-positivo e de Gram-negativo, assim como noutros microrganismos envolvidos em infecções com origem em feridas (Giri et al. 2009).

d) Derivados de plantas

Aloe vera

A *Aloe vera (Aloe barbadensis)* pertence à família Liliaceae, e a sua folha contém 200 compostos ativos, incluindo 20 minerais, 18 aminoácidos e 12 vitaminas. A sua boa capacidade regenerativa é conhecida há muitos anos e por isso tem sido utilizada em cuidados de pele tais como, curativos de queimaduras e feridas (Joshi et al. 2009).

Mais recentemente foi descoberta a sua capacidade antifúngica e antibacteriana devido ao polímero mucopolissacarídeo, *Acemannan*, que lhe confere estas duas propriedades e ainda propriedades anti-tumorais (Joshi et al. 2009). Vários estudos foram realizados para determinar a sua atividade em produtos têxteis. Num desses estudos foi mostrado que tecidos de algodão tratados com *Aloe vera* pelo processo de esgotamento apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, mantendo sua ação mesmo após 50 ciclos de lavagem (Stefanović et al. 2012).

Óleo de eucalipto

Os óleos essenciais produzidos pelas plantas são responsáveis pelos seus aromas característicos, apresentando, para além disso, muitas propriedades terapêuticas. Alguns óleos têm revelado com boa capacidade antimicrobiana, sendo aplicados em vários produtos terapêuticos e de higiene.

O óleo essencial de eucalipto tem como principal componente o eucaliptol. Este componente mostrou-se eficaz na eliminação de bactérias, fungos e vírus, ajudando ainda no tratamento da psoríase. Este óleo é também anti-inflamatório, analgésico e antioxidante (Joshi et al. 2009; Murugesh Babu e Ravindra 2015). O óleo já é aplicado em sabões comerciais, no entanto a sua aplicação em têxteis está ainda a ser testada. Vários trabalhos

Atividade antimicrobiana em têxteis

mostraram que este óleo é mais eficaz em lã do que em algodão (Joshi et al. 2009; Gouveia 2010; Murugesh Babu e Ravindra 2015).

Árvore-do-chá (*Tea Tree*)

O árvore-do-chá é um óleo essencial obtido por destilação a vapor das folhas da planta *Melaleuca alternifolia*, a qual tem a sua origem na Austrália. Este óleo contém 98 compostos sendo o terpineno-4-ol o composto com maior atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas vulgaris*, *Proteus microbilis*, *Helicobacter pylori* e *C. albicans* (Joshi et al. 2009; Murugesh Babu e Ravindra 2015).

O óleo de árvore-do-chá é reconhecido mundialmente como um medicamento natural, pois apresenta atividade anti-inflamatória, antioxidante, anti-tumoral, e antiparasitária contra piolhos (Mondello et al. 2006; Joshi et al. 2009).

A sua atividade em produtos têxteis está ainda a ser testada (Joshi et al. 2009).

Thymus vulgaris

Thymus vulgaris (*T. vulgaris*), vulgarmente conhecido por tomilho, pertence à família Lamiaceae. A sua utilização é antiga e muito variada. Na farmácia é apontado como um expetorante, sendo utilizado em chá e infusões. Na área alimentar é utilizado como conservante ou aromatizante (Chizzola et al. 2008).

Este óleo essencial é rico em compostos fenólicos, particularmente o timol e o carvacrol que lhe conferem a elevada capacidade antimicrobiana e inseticida que lhe é atribuída. O carvacrol está associado à capacidade bacteriostática e fungistática que este óleo apresenta (Walentowska e Flaczyk 2013).

Outros produtos derivados de plantas

Na tabela 7 encontram-se descritos outros produtos naturais à base de plantas utilizados como antimicrobianos e que foram descritos recentemente.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 7: Antimicrobianos à base de produtos naturais (adaptado de Joshi et al. 2009; Stefanović et al. 2012; Murugesh Babu e Ravindra 2015).

Plantas (Nome botânico)	Nome comum	Espetro de atividade	Principais compostos antimicrobianos
Família Asteraceae <i>Cichorium Intybus</i>	Chicória	Bactérias Fungos	Flavonóides, ácidos fenólicos e taninos
Família Lamiaceae <i>Salvia officinalis</i>	Salva	Bactérias Fungos Vírus	Fenóis, ácidos fenólicos, taninos, flavonóides e terpeno
Família Lamiaceae <i>Melissa officinalis</i>	Cidreira	Bactérias Fungos Vírus	Fenóis, ácidos fenólicos, taninos e flavonóides
Família Lamiaceae <i>Clinopodium vulgare</i>	Manjerição selvagem	Bactérias	Polifenóis
Família Apiaceae <i>Aegopodium podagraria</i>	Erva daninha do bispo	Bactérias Fungos	Flavonóides
Família Fabaceae <i>Dorycnium pentaphyllum</i>	Erva-mata-pulgas	Bactérias	Flavonóides
Família Meliaceae <i>Azadirachta indica</i>	Neem	Bactérias de Gram-positivo Bactérias de Gram-negativo	Taninos
Família Amaranthaceae <i>Achyranthes áspera</i>	Chicote do diabo	Bactérias de Gram-positivo Bactérias de Gram-negativo	Taninos, flavonóides e fenóis, alcalóides e saponinas
Família Myrtaceae <i>Syzygium</i>	Óleo de cravo	<i>S. aureus</i> <i>K. pneumoniae</i>	Eugenol
Família Fabaceae <i>Vigna angularis</i>	Feijão azuki	Bactérias	Polifenóis
Família Lythraceae <i>Punica granatum</i>	Romã	Bactérias e Fungos	Polifenóis e Flavonóides
Família Fabaceae <i>Cassia angustifolia</i>	Sene	<i>S. aureus</i> <i>Klebsiella</i> spp.	Fenol
Família Asteraceae <i>Tridax procumbens</i>	Erva-de-touro	Bactérias	Flavonóides

4.7.3 Têxteis antimicrobianos comerciais

A indústria têxtil desenvolveu e testou os agentes antimicrobianos, e com os conhecimentos adquiridos e resultados evidenciados preocupou-se também em registrar e comercializar fibras antimicrobianas com diferentes agentes ativos. Nestes métodos os agentes antimicrobianos são incorporados nas fibras antes da extrusão, ou são misturados nas fibras durante a sua formação. Alguns dos agentes antimicrobianos nestes têxteis já foram descritos anteriormente, no entanto as fibras adquirem um nome comercial de

Atividade antimicrobiana em têxteis

acordo com o antimicrobiano utilizado, o fabricante e a fibra (Gouveia 2010; Gutarowska e Michalski 2012). Na tabela 8 encontram-se descritos alguns dos atuais antimicrobianos comerciais.

Tabela 8: Lista de alguns antimicrobianos e fibras antimicrobianas comerciais (adaptado de Simoncic e Tomsic 2010).

Nome comercial	Companhia	Agente ativo
Acticoat	Smith & Nephew	Agente baseado em prata nanocristalina
Agion	Agion	Agente baseado em zeólito de prata
Bactekiller®	Fuji Chemical Industries Ltd	Agente baseado em iões metálicos
Bactershield®	Sinterama	Fios de poliéster com um agente bacteriostático
Biofresh™	Sterling Fibers, Inc.	Fibras de acrílico com triclosano
Biosil	Toyobo	Agente baseado no QACs
Chitopoly®	Fuji-Spinning	Fibra de modal com quitosano
Crabyon®	SWICOFIL	Fibra de quitina/quitosano e viscosa de celulose
Eosy®	Unitika	Agente à base de quitosano
FeelFresh®	Toyobo	Fibras acrílicas com iões metálicos antibacterianos
Irgaguard® (B5000, B6000, B7000)	BASF (Ciba)	Agente à base de prata para fibras sintéticas
Irgaguard® F 3000	BASF (Ciba)	Agente antifúngico à base de benzimidazol
Irgaguard® 1000	BASF (Ciba)	Agente à base de triclosano
Irgasan	Sigma Aldrich	Agente à base de triclosano
Microban®	Microban international	Agente à base de triclosano para fibras sintéticas
Microsafe AM®	Hoechst-Celanese	Fibras de acetato com agente antimicrobiano
Nylcare	Nylstar	Mistura de fios de poliamida inteligentes com iões de prata
Rhovyl'As®	Rhovyl	Fibras com triclosano
Ruco-Bac AGL; EPA	Rudolf Chemie	Acabamento higiénico à base de sais inorgânicos e agentes tensoativos
Ruco-Bac CID	Rudolf Chemie	Agente antifúngico à base de triazol
Ruco-Bac EXE	Rudolf Chemie	Agente antimicótico à base de QACs
SA 30®	Kuraray	Fibras de poliéster com antimicrobiano
Sanigard (DC,7500, 500)	L.N.Chemical	Agente à base do composto quaternário de organosilano
Sanigard-CHF	L.N.Chemical	Agente à base de triclosano
SeaCell®active	Smartfiber AG	Fibra <i>Seacell</i> com iões de prata
Silpure Thomson	Research Associates	Agente à base de partículas de prata
SWICOFIL Ltd	China Bambro Textile Co.,	Fios e fibras à base de polpa de bambu
Thunderon®	Nihon Sanmo Dyeing Company Ltd	Fibras acrílicas com cobre
Trevira bioactive®	Trevira the Fibre Company	Agente à base de iões de prata
Ultrafresh	Thomson Research Associate	Contém componentes não iónicos compatíveis com uma vasta gama de produtos

4.8 Testes de atividade antimicrobiana nos materiais têxteis

Os têxteis antimicrobianos tornaram necessário o desenvolvimento de metodologias que avaliem a atividade antimicrobiana. Os testes usados têm duas funções essenciais, avaliar a eficácia relativamente às propriedades antimicrobianas (antibacterianas/antifúngicas) e garantir que a qualidade e desempenho do têxtil não se alteram com a aplicação do composto antimicrobiano (Esteves 2009; Gutarowska e Michalski 2012).

O bom desempenho dos testes dependem da escolha do controlo, uma vez que num têxtil onde é mostrada a existência de atividade antimicrobiana é necessário demonstrar que nesse mesmo têxtil sem tratamento e sob as mesmas condições haveria crescimento bacteriano, do método de ensaio escolhido, do tamanho do têxtil e do microrganismo a testar (Esteves 2009; Gutarowska e Michalski 2012).

Os testes que avaliam a atividade antimicrobiana são divididos em dois grupos, os testes qualitativos que permitem classificar qualitativamente o desempenho do têxtil e os testes quantitativos que permitem quantificar a redução microbiana quando se encontra em contacto com o têxtil (Gutarowska e Michalski 2012).

Os métodos qualitativos são na sua maioria baseados em testes de difusão em agar. Estes testes são considerados rápidos e de rastreio, contudo não são indicados para todos os têxteis, uma vez que o resultado depende da difusão do antimicrobiano no agar (Ristić et al. 2011). O efeito da atividade antimicrobiana é avaliado de acordo com a área em que não é observado crescimento de microrganismos (Gutarowska e Michalski 2012).

Os testes quantitativos são mais dispendiosos em termos de preço e de tempo de execução, mas, em contrapartida, são aplicados a todos os têxteis indicando o nível bactericida/fungicida do antimicrobiano, assim como permitem avaliar diferentes níveis de tratamento na mesma amostra (Ristić et al. 2011).

Os testes quantitativos e qualitativos habitualmente utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana dos têxteis encontram-se descritos a seguir e os microrganismos a testar podem ser substituídos por outros desde que haja adaptação da técnica.

4.8.1 Testes qualitativos

4.8.1.1 AATCC 147 – Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis: método de estrias paralelas

O AATCC 147 é um teste qualitativo que deteta a atividade bacteriostática em materiais têxteis. Neste caso é necessário que o antimicrobiano seja migratório, ou seja, tenha a capacidade de difusão em agar (American Association of Textile Chemists and Colorists 2007).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Nas placas de agar o microrganismo teste é semeado em 5 estrias paralelas, posteriormente a amostra e os controlos são colocados em contacto íntimo com as estrias, e as placas são incubadas (American Association of Textile Chemists and Colorists 2007). Após a incubação é observada visualmente a inibição do crescimento na zona adjacente ao têxtil ou numa área em torno do têxtil indicando que o antimicrobiano se dissolveu no meio de cultura e inibiu o microrganismo teste, como demonstrado na ilustração 10.

Este método é utilizado também para estimar a atividade antimicrobiana após várias lavagens (American Association of Textile Chemists and Colorists 2007).

O teste permite obter uma estimativa aproximada da atividade antimicrobiana através da avaliação do tamanho da zona de inibição e a diminuição do tamanho das estrias provocado pela presença do antimicrobiano (American Association of Textile Chemists and Colorists 2007; Biovation 2010).

Os principais microrganismos-teste utilizados neste método são *S. aureus* ATCC®6538™ (bactéria de Gram-positivo) e *K. pneumoniae* ATCC®4352™ (bactéria de Gram-negativo) (American Association of Textile Chemists and Colorists 2007).

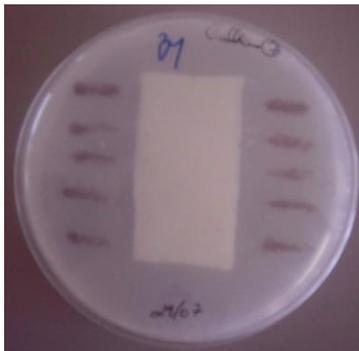


Ilustração 11: Resultado segundo a AATCC 147 com inibição de crescimento de *C. albicans* na zona adjacente ao têxtil (adaptado dos resultados do trabalho).

4.8.1.2 NP EN ISO 20645:2004 – Determinação da atividade antibacteriana: teste de difusão em agar

A ISO 20645 é um método que determina o efeito de tratamento com antimicrobianos aplicados em tecidos, malhas e outros têxteis planos (International Organization for Standardization 2004).

Esta norma é aplicada também para testar também acabamentos de higiene hidrofílicos, materiais permeáveis ao ar e produtos antimicrobianos incorporados nas fibras. Neste procedimento, tal como no anterior, é necessário que o antimicrobiano migre na placa de agar (International Organization for Standardization 2004).

Atividade antimicrobiana em têxteis

Na placa de agar existem duas camadas, a camada inferior é livre de qualquer microrganismo, para a camada superior coloca-se 1 mL suspensão bacteriana com concentração de $1-5 \times 10^8$ UFC/mL diluída em 150 mL de meio de cultura e posteriormente coloca-se cerca de 5mL sobre a camada inferior. As amostras e controlos são colocados por cima da segunda camada e incubam (International Organization for Standardization 2004).

Após a incubação as placas são observadas e para ser considerado efeito antimicrobiano é necessária uma zona de inibição igual ou superior a 1mm (International Organization for Standardization 2004).

Neste método os microrganismos avaliados são *S. aureus* ATCC®6538™, *E. coli* ATCC®11229™ (bactéria de Gram-negativo) e *K. pneumoniae* ATCC®4352™ (International Organization for Standardization 2004).

4.8.1.3 AATCC 30- Atividade antifúngica, avaliação em materiais têxteis: bolor e resistência dos materiais têxteis

O método AATCC 30 é um teste qualitativo que permite determinar a suscetibilidade dos materiais têxteis ao bolor e à degradação (apodrecimento) e avaliar a eficácia antimicrobiana dos fungicidas em produtos têxteis (American Association of Textile Chemists and Colorists 2001).

Este método contém quatro testes diferentes, conforme a finalidade (American Association of Textile Chemists and Colorists 2001):

- **Teste I – Soil Burial:** este teste é utilizado em têxteis que irão estar em contacto com o solo, como é o caso de tendas de campismo ou toldos. Este teste pode ser usado também para testar o efeito fungicida de um antimicrobiano (American Association of Textile Chemists and Colorists 2001).
- **Teste II e III - Cultura de agar:** o teste II é utilizado em materiais com celulose que não vão estar em contato com o solo e permite avaliar a resistência à degradação. Este teste permite ainda testar a atividade fungicida de um antimicrobiano. O microrganismo a testar é *Chaetomium globosum* (American Association of Textile Chemists and Colorists 2001).

O teste III é utilizado em materiais têxteis em que o fungo *Aspergillus niger* é importante.

Após o procedimento os resultados são observados macroscopicamente e microscopicamente, sendo necessário verificar apenas se há ou não crescimento (ATS-Labs 2004).

Atividade antimicrobiana em têxteis

- **Teste IV - Humidade e suspensão de esporos:** este método é utilizado para determinar a eficácia fungistática de antimicrobianos destinados a controlar o bolor e crescimento de fungos não patogénicos em materiais têxteis que se encontram expostos ao ar (American Association of Textile Chemists and Colorists 2001).

Os organismos a testar são *Aspergillus niger*, *Penicillium varians*, *Trichoderma viride*.

Estes testes podem ser utilizados em conjunto ou separadamente de acordo com a finalidade do têxtil.

4.8.2 Testes quantitativos

4.8.2.1 AATCC 100 – Avaliação da atividade antibacteriana em materiais têxteis

Este método permite avaliar quantitativamente o grau de atividade antibacteriana do material têxtil. Previamente, as amostras e controlos são submetidas ao método AATCC 147 (método qualitativo) e quando mostram atividade é que são avaliadas quantitativamente (American Association of Textile Chemists and Colorists 2009).

O AATCC 100 permite medir a capacidade bactericida ou bacteriostática do têxtil antimicrobiano através do cálculo da percentagem dos microrganismos reduzidos.

Neste método são usadas como bactéria teste *K. pneumoniae* ATCC®4352™ e *S. aureus* ATCC®6538™ (American Association of Textile Chemists and Colorists 2009).

Os controlos e a amostra a testar são inoculados com o microrganismo teste (a suspensão bacteriana apenas toca no têxtil). Imediatamente após o contacto é realizada eluição numa solução neutralizante seguida de diluições. A amostra e controlos são semeados em placas de agar e colocadas a incubar durante 24 h a 37±2°C e posteriormente é realizada a contagem dos microrganismos. É comparado o número de microrganismos contados no teste com tratamento antimicrobiano e no controlo sem tratamento (American Association of Textile Chemists and Colorists 2009).

Atividade antimicrobiana em têxteis

4.8.2.2 ISO 20743:2007 – Determinação da atividade antibacteriana em produtos acabados

A ISO 20743:2007 é aplicada a todos os produtos têxteis, incluindo tecidos, estofos, material de vestuário, material têxtil de decoração entre outros bens, independentemente do agente antibacteriano utilizado (orgânico, inorgânico, natural ou sintético) ou do método de aplicação (International Organization for Standardization 2007).

A norma apresenta três métodos distintos para determinar a atividade antimicrobiana, e são escolhidos de acordo com a finalidade do têxtil. Os métodos são os seguintes (International Organization for Standardization 2007):

- **Método de absorção:** a suspensão bacteriana é inoculada diretamente sobre a amostra a testar.
- **Método de transferência:** as bactérias são colocadas em placas de agar e posteriormente transferidas para a amostra.
- **Método de impressão:** as bactérias são colocadas num filtro e posteriormente são impressas na amostra.

Na norma são também especificados os métodos de contagem em placa e através da adenosina trifosfato (ATP) (International Organization for Standardization 2007).

Neste método são usadas como bactéria teste a *K. pneumoniae* ATCC®4352™ e *S. aureus* ATCC®6538™ (International Organization for Standardization 2007).

Existem outros testes para avaliar a atividade antibacteriana em têxteis, a maioria por difusão em agar. Os outros testes que podem ser utilizados são os seguintes: SN 195920-1992 – Determinação da atividade antimicrobiana: teste de difusão em agar; SN 195921-1992 - Determinação a atividade antifúngica: teste de difusão em agar; NP EN 14119:2005 - Avaliação do tratamento antifúngico em produtos têxteis; JIS L 1902-8-1998 – Ensaio antimicrobiano qualitativo em têxteis; SN 195924 – Determinação da atividade antimicrobiana: método de contagem de microrganismos; DIN 53931 - Determinação da resistência para o crescimento de bolores; Teste de crescimento de organismos; ASTM E2180: 2007 - Método para determinar a atividade dos agentes antimicrobianos incorporados em materiais sintéticos hidrofóbicos e ASTM E2149 - Método para determinar a atividade dos agentes antimicrobianos incorporados por contacto (OECD Environment, Health and Safety Publications 2007).

Objetivos

5. Objetivos

O presente trabalho de investigação, realizado no âmbito do tema “Determinação da atividade antimicrobiana em têxteis”, teve como principal finalidade investigar e determinar a atividade antimicrobiana de têxteis comerciais e têxteis desenvolvidos no Departamento de Engenharia Têxtil da Universidade do Minho, utilizando métodos qualitativos.

Mais concretamente, ao longo deste trabalho foram ambicionados três objetivos:

- Avaliar a eficácia da atividade antibacteriana/antifúngica em têxteis com tratamento antimicrobiano e em têxteis sem qualquer adição de antimicrobiano;
- Desenvolver metodologias qualitativas para avaliar a eficácia antimicrobiana das amostras têxteis;
- Impregnar nos têxteis que não revelaram qualquer atividade o óleo essencial *T. vulgaris* e avaliar a sua eficácia recorrendo a metodologias qualitativas.

Material e Métodos

6. Material e métodos

6.1 Caracterização das amostras têxteis

As amostras têxteis foram fornecidas pelo departamento de Engenharia Têxtil da Universidade do Minho em três fases distintas. Numa primeira fase (Série 1) foram testadas oito amostras (Têxtil T2-T9) com uma estrutura tridimensional, sendo necessário avaliar a atividade antimicrobiana na frente e no verso das amostras pelo facto de a composição ser distinta, como apresentado na tabela 9.

Tabela 9: Composição das amostras da primeira série (S1: T2-T9).

Amostra (S1)	Composição (Fibras)	Nº de fios		
		Frente	Ligação	Verso
Têxtil 2 (S1-T2)	Algodão			2
	Poliéster bioativo	1	1	
Têxtil 3 (S1-T3)	Algodão		2	2
	Poliéster bioativo	1		
Têxtil 4 (S1-T4)	Algodão	1		
	Bambu		2	2
	Poliéster	1		
Têxtil 5 (S1-T5)	Algodão		2	
	Bambu	2		
	Poliéster			2
Têxtil 6 (S1-T6)	Bambu	2	2	
	Poliéster			2
Têxtil 7 (S1-T7)	Bambu	2		
	Poliéster		2	2
Têxtil 8 (S1-T8)	Algodão		1	2
	Bambu		1	
	Poliéster bioativo	1		
Têxtil 9 (S1-T9)	Algodão			2
	Bambu		2	
	Poliéster bioativo	1		
Controlo negativo	100% Algodão			

Numa segunda fase (Série 2) foram testadas sete amostras (Têxtil T1-T7) com uma estrutura bidimensional sendo apenas avaliado um dos lados das amostras. A composição das segundas amostras de têxteis encontra-se descrita na tabela 10.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 10: Composição da segunda série de amostras têxteis (S2: T1-T7).

Amostra (S2)	Composição
Têxtil 1 (S2-T1)	100% Bambu (Grau de aperto 2)
Têxtil 2 (S2-T2)	100% Poliéster bioativo (Grau de aperto 2)
Têxtil 3 (S2-T3)	100% Bambu (Grau de aperto 1)
Têxtil 4 (S2-T4)	100% Poliéster bioativo (Grau de aperto 1)
Têxtil 5 (S2-T5)	100% Algodão cru (Grau de aperto 2)
Têxtil 6 (S2-T6)	100% Poliéster (Grau de aperto 2)
Têxtil 7 (S2-T7)	100% Algodão branqueado, com uma concentração mássica de 0.35% de Ruco-Bac AGP.
Controlo negativo	100% Algodão

Na terceira fase (Série 3) foram testadas cinco amostras (Têxtil T1-T5) impregnadas com diferentes concentrações de óleo essencial de *T. vulgaris*. Este grupo de têxteis tinha uma estrutura bidimensional e a sua composição encontra-se descrita na tabela 11.

Tabela 11: Composição do terceiro conjunto de têxteis (S3: T1-T5).

Amostra (S3)	Composição
Têxtil 1 (S3-T1)	Algodão com 5 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>
Têxtil 2 (S3-T2)	Algodão com 20 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>
Têxtil 3 (S3-T3)	Poliéster com 5 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>
Têxtil 4 (S3-T4)	Poliéster com 10 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>
Têxtil 5 (S3-T5)	Poliéster com 20 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>
Controlo da atividade do solvente (Algodão)	Algodão com etanol e água
Controlo da atividade do solvente (Poliéster)	Poliéster com etanol e água
Controlo negativo (Algodão)	100% Algodão
Controlo negativo (Poliéster)	100% Poliéster
Controlo positivo (Algodão)	100% Algodão com 5 µL/mL <i>T. vulgaris</i>
Controlo positivo (Poliéster)	100% Poliéster com 5 µL/mL <i>T. vulgaris</i>

6.2 Preparação das amostras têxteis

As amostras foram cortadas de acordo com dimensões indicada na norma AATCC 147 utilizada ao longo deste trabalho $\pm 2,5$ cm x 1,5 cm. As amostras que foram utilizadas segundo os métodos não padronizados tinham uma dimensão $\pm 1,5$ cm x 1,5 cm.

Todas as amostras foram sujeitas a um processo de esterilização através de calor seco a uma temperatura de 180°C durante noventa minutos.

6.3 Preparação dos meios de cultura

Ao longo deste trabalho foram utilizados diferentes meios de cultura de acordo com o microrganismo a ser avaliado e com o descrito na norma utilizada.

Para este trabalho foram utilizados o meio de *Manitol Salt Agar* (MSA), *MacConkey Agar* (MAC), *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Tryptona Soja Agar* (TSA), *Mycose/ Agar* (MYC), *Müller-Hinton Agar* (MHA), *Müller-Hinton Broth* (MHB), *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) *Brain Heart Infusion* (BHI), *Biggy Agar*, RPMI 1640 e o meio comercial BD™ *CHROMagar™ Candida Medium*. Os meios foram todos preparados de acordo com o descrito pelo fabricante. Dissolvidos os componentes, foram esterilizados em autoclave a uma temperatura de 121°C durante 15 minutos (exceto para o MYC em que a temperatura utilizada neste meio de cultura foi de 118°C). Após a esterilização os meios de cultura sólidos foram distribuídos em placas estéreis.

Todos meios de cultura foram sujeitos a uma prova de esterilidade em estufa a 37°C durante 24h e conservados a 2-8°C até utilização.

6.4 Estirpes de microrganismos testados

Foram utilizadas cinco estirpes de bactérias e seis estirpes de fungos selecionados de acordo com a finalidade das amostras. As bactérias utilizadas ao longo do trabalho foram as seguintes: *E. coli* ATCC® 25923™, *S. aureus* AATCC® 6538™, *P. aeruginosa* ATCC® 25783™, *K. pneumoniae* ATCC® 11296™, *S. epidermidis* ATCC® 12228™. Os fungos utilizados no estudo foram a levedura *C. albicans* ATCC® 10231™, o fungo filamentoso *A. fumigatus* ATCC® 46645™ e os dermatófitos *T. rubrum*, *Microsporium canis*, *Microsporium gypseum* e *Epidermophyton floccosum* (isolados clínicos de uma micose superficial). Os microrganismos, congelados em meio líquido com 15% de glicerol foram repicados para garantir culturas puras e viáveis. Previamente a cada experiência foram repicadas para MHA as bactérias, para SDA a levedura e para MYC o dermatófito. As bactérias e levedura foram incubadas a 37°C/24h e o fungo filamentoso, *T. rubrum*, foi incubado a 28°C/5-7 dias.

6.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos têxteis

Para avaliar a atividade antimicrobiana das amostras foram utilizadas metodologias qualitativas. Ao longo do trabalho foram testadas várias metodologias não padronizadas para selecionar as que se adequavam às amostras e ao tipo de estudo.

As metodologias utilizadas englobaram a AATCC 147 e duas metodologias não padronizadas, inoculação dos microrganismos no têxtil e inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura.

6.5.1 Atividade antimicrobiana em têxteis: AATCC 147 -Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis: método de estrias paralelas

O microrganismo a ser testado foi inoculado em cerca de 10 mL BHI e incubou a 37°C. Após 24h de incubação retirou-se 1,0 mL do BHI e transferiu-se para 9,0 mL de água destilada estéril. Com uma ansa recolheu-se o inóculo preparado e foram realizadas cinco estrias horizontais no meio de cultura TSA para as bactérias ou SDA para os fungos.

As amostras têxteis a testar, incluindo as amostras controlo, previamente cortadas e esterilizadas, foram colocadas transversalmente sobre as estrias. As placas foram incubadas a 37°C/24h para bactérias, 37°C/48h para *C. albicans*, 28°C/48h para *A. fumigatus* e 28°C/5 dias no caso de *T. rubrum*.

Após os períodos de incubação as placas foram observadas macroscopicamente e registada a presença ou ausência de estrias de crescimento.

6.5.2 Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis: métodos qualitativos não padronizados

Para as bactérias testadas *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* e a levedura *C. albicans* foi preparada uma suspensão em 2 mL de soro fisiológico estéril a partir das colónias em cultura pura e jovem. Ressuspenderam-se uma a três colónias até uma turvação de 0,5 na escala de *McFarland* (McF).

Para o dermatófito, *T. rubrum*, foi preparado numa suspensão de esporos em 1mL soro fisiológico com uma ansa de tween 80, ficando com uma concentração final de 25-60 esporos contados no microscópio na câmara de *Neubauer*.

Atividade antimicrobiana em têxteis

6.5.2.1 Inoculação dos microrganismos no têxtil

Os têxteis a testar, incluindo as amostras controle, foram mergulhados nas suspensões bacterianas/fúngicas, previamente descritas, e colocados sobre papel de filtro numa placa de vidro estéril para secarem na estufa a 37°C durante sessenta minutos. De seguida, os têxteis inoculados foram colocados na superfície de placas de MAC no caso de *P. aeruginosa* e *E. coli*, MSA para *S. aureus*, SDA para *C. albicans* e MYC no caso de *T. rubrum*. Amostras de têxteis foram também mergulhadas em tubos de caldo de MHB no caso de bactérias e SDB no caso dos fungos.¹ Placas e tubos foram incubados a 37°C/24h no caso das bactérias e levedura e a 28°C/5 dias para *T. rubrum*.

A leitura foi efetuada através da presença ou ausência de crescimento bacteriano/fúngico no tecido e na zona envolvente do meio de cultura, no caso do meio sólido, ou por turvação no caso do meio líquido.

6.5.2.2 Inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura

Nas suspensões bacterianas/fúngicas preparadas, e previamente descritas, foi mergulhada uma zaragatoa estéril e efetuada uma inoculação em tapete na superfície dos diferentes meios de cultura descritos na técnica anterior. O inóculo foi distribuído por toda a superfície do meio de cultura por estrias apertadas, em três direções, perpendiculares entre si.

Após a superfície seca, cerca de 15 minutos, foram colocadas sobre o meio de cultura as amostras dos têxteis a testar, incluindo as amostras controle. As placas foram incubadas como previamente descrito e a leitura efetuada através da ausência ou presença de crescimento bacteriano/fúngico na superfície da placa.

¹ O SDB e MHB foram eliminados ao longo do trabalho sendo utilizados apenas os meios sólidos.

6.6 Impregnação de compostos antimicrobianos nos têxteis e avaliação da sua atividade

6.6.1 Determinação da concentração mínima inibitória do *Thymus vulgaris*

A concentração mínima inibitória corresponde ao valor de concentração mais baixa em que um determinado antimicrobiano consegue inibir o crescimento visível de um determinado microrganismo.

A sua determinação foi realizada em fungos e em bactérias seguindo diferentes normas. Para as bactérias *E. coli* ATCC® 25923™, *S. aureus* ATCC® 6538™ e *P. aeruginosa* ATCC® 25783™ a determinação foi efetuada segundo o descrito na norma M07-A9 da CLSI. Para os fungos foi testada *C. albicans* ATCC® 10231™ de acordo com o descrito na norma M27-A2 da CLSI e *T. rubrum* segundo o descrito na norma M38-A2 da CLSI.

- Preparação do inóculo/Suspensão de trabalho

Bactérias/leveduras

A amostra de bactérias foi preparada por suspensão, a partir de cultura pura e jovem em meio de MHA, em soro fisiológico e a sua densidade padronizada a 0,5 McF, correspondente a $1-2 \times 10^8$ CFU/mL. Esta suspensão foi diluída a 1:100 em MHB, correspondendo a $1-2 \times 10^6$ UFC/mL) (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012).

A suspensão de *C. albicans* foi preparada como descrito para as bactérias, correspondendo 0,5 McF a $1-5 \times 10^6$ CFU/mL. A suspensão de trabalho foi preparada por diluição de 1:50 da suspensão anterior em RPMI 1640 seguida de uma outra diluição 1:20 no mesmo meio, correspondendo a $1-5 \times 10^3$ CFU/mL (Clinical and Laboratory Standards Institute 2002)

T. rubrum

A suspensão de esporos de *T. rubrum* foi preparada em 1 mL de soro fisiológico com tween 80 e padronizada a 25-60 esporos por contagem em câmara de *Neubauer*, como previamente descrito. A suspensão foi então diluída a 1:100 em RPMI 1640 correspondendo a $1-3 \times 10^3$ CFU/mL (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008).

Atividade antimicrobiana em têxteis

- **Preparação da solução de *T. vulgaris*:**

O óleo essencial foi diluído a 1:2 em DMSO, correspondendo a 500 µL/mL. A partir desta solução foi preparada uma diluição de 1:50 em RPMI ou MHB (10 µL/mL). Foram obtidas diluições de base 2 em DMSO e a partir destas, foram preparadas diluições de 1:50 em RPMI ou MHB que serviram para preparar as concentrações seguintes de 2,5 a 0,04 µL/mL.

- **Inoculação**

A inoculação foi realizada numa microplaca contendo 96 poços. Para as bactérias, a cada poço foram adicionados 50 µL das respetivas concentrações de *T. vulgaris* e 50 µL de suspensão bacteriana, diluindo a metade a concentração do óleo e do inóculo. A microplaca incubou a 37°C/24h e posteriormente foi realizada a leitura macroscópica do crescimento, sendo assim determinado a CMI para cada bactéria. Para os fungos, em cada poço foram adicionados 100 µL das diferentes concentrações do óleo e 100 µL da suspensão do fungo. A microplaca incubou a 28°C/5 dias para *T. rubrum* e 37°C/24h para *C. albicans*. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos resultados.

Os controlos utilizados nesta técnica foram dois, o controlo de esterilidade e controlo de crescimento. Para o controlo de esterilidade foram colocados em dois poços 200 µL de RPMI para os fungos e 100 µL de MHB para as bactérias. Para o controlo de crescimento em dois poços, foram adicionados 100 µL de RPMI com DMSO a 2% e 100 µL da suspensão de *C. albicans* ou *T. rubrum*. Para as bactérias foram adicionados 50 µL da suspensão de bactérias e 50 µL de MHB com DMSO a 2%. Os resultados são validados quando não existe crescimento no controlo de esterilidade e há crescimento nos poços de controlo de crescimento.

6.6.2 Avaliação da atividade de *Thymus vulgaris* nos têxteis

a) Têxteis mergulhados na solução do óleo essencial *T. vulgaris*

Os têxteis foram mergulhados em soluções com diferentes concentrações do óleo essencial de *T. vulgaris*, obtido comercialmente (segredo da Planta, Portugal). As concentrações variaram entre 5 µL/mL e 0,32 µL/mL. Para obter a concentração de 5 µL/mL foi realizada uma solução com 9850 mL de soro fisiológico, 100 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e 50 µL de *T. vulgaris*. As restantes concentrações foram obtidas através de diluições volumétricas sucessivas de 1:2 em soro fisiológico a partir da solução com concentração 5 µL/mL.

Atividade antimicrobiana em têxteis

As amostras estéreis de têxteis preparadas e respetivo controlo foram mergulhadas nas diferentes concentrações do óleo e colocados a secar a 37°C/24h. Após as 24h, a avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada através da metodologia previamente descrita, por inoculação dos microrganismos nos têxteis tratados e respetivos controlos.

b) Têxteis funcionalizados com *T. vulgaris*

Os têxteis de algodão e poliéster foram mergulhados numa solução de água/etanol (60:40) com diferentes concentrações (5, 10 e 20 µL/mL) do óleo essencial de *T. vulgaris* obtido comercialmente (segredo da Planta, Portugal). Para obter a concentração de 5 µL/mL foi realizada uma solução com 119 mL de água, 80 mL de etanol e 1 mL de *T. vulgaris*. Posteriormente, os têxteis foram passados pelo folar, para impregnar o antimicrobiano à superfície da fibra, e secos na estufa a cerca de 50°C.

Como controlo do efeito do solvente foi utilizado algodão e poliéster mergulhado numa solução de água/etanol, nas condições descritas anteriormente. Como controlo positivo foi utilizado o algodão e o poliéster impregnados com 5 µL/mL de *T. vulgaris* segundo o método previamente descrito no ponto 6.6.2 a). Como controlo negativo foram usadas as amostras 100% algodão e 100% poliéster.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada através da metodologia previamente descrita, por inoculação dos microrganismos nos têxteis tratados e respetivos controlos.

6.6.3 Avaliação da atividade do Nitrato de prata nos têxteis

As amostras foram previamente mergulhadas em soluções com diferentes concentrações de nitrato de prata (AgNO₃). As concentrações de AgNO₃ variaram entre 17 g/L e 1,05 g/L. A solução de 17 g/L foi obtida a partir de nitrato de prata PA-ACS-ISO (*Panreac*) numa concentração de 0,1M, as restantes diluições foram obtidas através de diluições volumétricas sucessivas de 1:2 em água destilada estéril a partir da solução de AgNO₃ com concentração de 17 g/L.

As amostras de têxteis preparadas seguiram o procedimento descrito para as amostras tratadas com *T. vulgaris*.

Resultados

7. Resultados

7.1 Atividade antimicrobiana em têxteis: Método ATCC 147 - Avaliação da atividade antibacteriana em têxteis- método de estrias paralelas

Para determinar a eficácia antimicrobiana dos têxteis foi utilizado, inicialmente, o teste normalizado AATCC 147. Após dificuldade de leitura do teste anteriormente referido, foram desenvolvidos e aplicados dois testes adicionais não normalizados. Segundo a norma AATCC 147 foram testados as duas primeiras séries de têxteis (S1 e S2).

Na norma são referenciados apenas os microrganismos *S. aureus* e *K. pneumoniae* como microrganismos teste. Durante a realização deste trabalho outros microrganismos nomeadamente as bactérias, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* e os fungos *T. rubrum*, *C. albicans* e *A. fumigatus* foram testados. Ao longo do trabalho foram eliminados alguns microrganismos ficando em estudo o *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *T. rubrum* e *C. albicans*, como representantes de diferentes grupos e pela sua importância em infeções superficiais.

Os têxteis da Série 1, estudados segundo a norma AATCC 147, não mostraram qualquer atividade contra os microrganismos testados (Tabela 12), sendo observável o crescimento das estrias nos meios de TSA (bactérias) e SDA (fungos) (Ilustração 11). Para além dos têxteis foi também testado o controlo negativo que correspondia a uma amostra de 100% algodão, no qual se observou crescimento de todos os microrganismos, como era esperado, sendo possível validar a técnica e proceder à leitura das restantes amostras.

Tabela 12: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S1: T2-T9 (frente-F e verso-V) de acordo com a norma AATCC 147.

Têxtil	Microrganismos						
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. fumigatus</i>
S1-T2 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T3 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T4 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T5 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T6 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T7 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T8 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T9 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Controlo	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Legenda: Controlo: 100% algodão; (+): Crescimento de microrganismos no têxtil.

Atividade antimicrobiana em têxteis

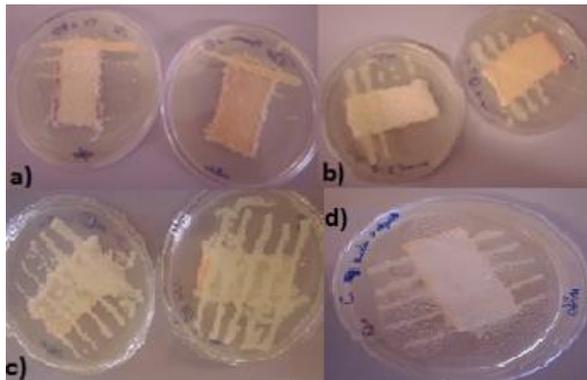


Ilustração 12: Exemplo do crescimento dos diferentes microrganismos em placa segundo o método AATCC 147 no têxtil S1-T2. a) *T. rubrum* (frente e verso); b) *K. pneumoniae* (frente e verso); c) *C. albicans* (frente e verso); d) *C. albicans* no controle (algodão).

Considerando as dificuldades observadas na interpretação dos resultados, isto é, na avaliação do crescimento ou ausência de crescimento dos microrganismos por este método, optou-se por testar inicialmente todas as séries de têxteis (S1, S2 e S3) pelos métodos qualitativos não padronizados desenvolvidos ao longo do trabalho.

7.2 Avaliação da atividade antimicrobiana em têxteis: métodos qualitativos não padronizados

Como referido anteriormente, devido à dificuldade na avaliação da atividade para os têxteis S1:T2-T9 segundo a norma AATCC 147, foram desenvolvidas ao longo do trabalho duas metodologias não padronizadas utilizando meios seletivos/diferenciais e meios sólidos/meios líquidos permitindo assim confirmar se existia crescimento de microrganismos nas amostras. Todos os têxteis foram testados por estas metodologias em meio sólido.

7.2.1 Inoculação dos microrganismos no têxtil

Neste método foi efetuado um controlo de esterilidade nos têxteis em que cada um deles foi colocado em paralelo com a amostra impregnada de microrganismo. Nas amostras controlo (sem microrganismo), não foi observado qualquer crescimento, garantido que os têxteis estariam estéreis e o crescimento era devido aos microrganismos neles inoculados. O controlo negativo foi o têxtil algodão, sem inoculação e pós inoculação com o microrganismo em estudo. Para o algodão foi sempre observado crescimento quando inoculado com o microrganismo, confirmando a ausência de atividade antimicrobiana neste tipo de têxtil e para os microrganismos ensaiados.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Relativamente aos resultados dos têxteis da primeira série (S1: T2-T9), estes foram testados em meio sólido (frente e verso) e em meio líquido. Usando este método foi visível a alteração da cor no meio de cultura sólido, quando ocorre crescimento microbiano, não tendo sido possível observar qualquer zona de inibição. A turvação observada no meio líquido confirma o crescimento dos microrganismos inoculados no têxtil. Assim, os resultados observados em meio sólido e em meio líquido foram equivalentes e estes têxteis, tal como no método padronizado, não mostraram qualquer atividade contra os microrganismos testados como demonstrado na Tabela 13 e ilustração 12. Também não foi observada qualquer diferença entre as duas faces dos têxteis. Nas amostras controlo (sem microrganismo) não foi observado qualquer crescimento, confirmando a esterilidade das amostras.

Tabela 13: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S1:T2-T9 (frente-F e verso-V), segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil

Têxtil	Microrganismo				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>
S1-T2 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T3 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T4 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T5 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T6 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T7 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T8 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S1-T9 (F/V)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Controlo	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Legenda: Controlo:100% algodão; (+): Crescimento do microrganismo no têxtil.

Atividade antimicrobiana em têxteis

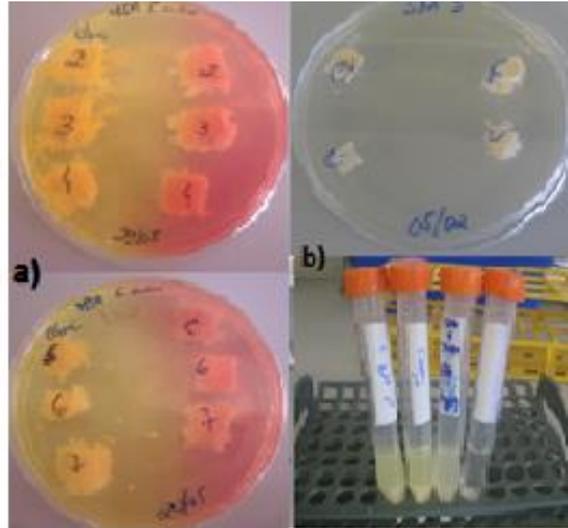


Ilustração 13: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos em placa e em tubo, segundo o método de inoculação dos microrganismos nos têxteis S1. **a)** *S. aureus* nos têxteis S1: T2-T7 (frente) em meio de MSA (lado esquerdo da placa: têxtil mergulhado na suspensão de microrganismo e lado direito da placa: têxtil estéril); **b)** *C. albicans* no têxtil S1-T3 em placa de SDA (F/V) e em tubo SDB (ausência de crescimento no controle algodão sem microrganismo em placa e tubo).

Para têxteis da Série 2, testados apenas numa das faces pelo facto de serem iguais, as amostras S2-T1, T3 e T7 revelaram atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *T. rubrum* (ilustração 13). A amostra S2-T7 mostrou ainda atividade contra *S. aureus*. Nenhum dos têxteis ativos mostrou efeito inibitório em *C. albicans*. As restantes amostras não revelaram qualquer atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados, tal como evidenciado na Tabela 14.

Tabela 14: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S2:T1-T7 segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.

Têxtil	Microrganismo				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>
S2-T1	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
S2-T2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S2-T3	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
S2-T4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S2-T5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S2-T6	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
S2-T7	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
Controlo	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Legenda: Controlo: 100% algodão; (+): Crescimento do microrganismo no têxtil; (-): Ausência de crescimento do microrganismo no têxtil.

Atividade antimicrobiana em têxteis

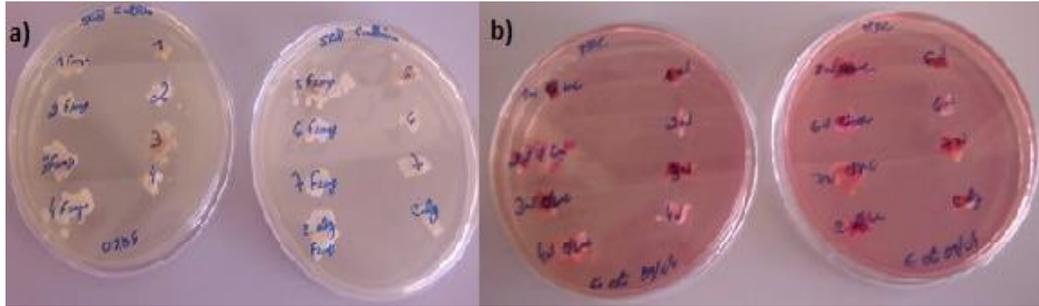


Ilustração 14: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos, segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil (lado esquerdo da placa: têxtil mergulhado na suspensão de microrganismo e lado direito da placa: têxtil estéril). **a)** Crescimento de *C. albicans* em todos os têxteis S2:T1-T7; **b)** Ausência de crescimento de *E. coli* nos têxteis S2:T1, T3 e T7 e crescimento nos restantes têxteis S2:T2,T4-T6 e controlo.

Com a finalidade de desenvolver têxteis funcionais com atividade antimicrobiana fornecida pela adição de produtos naturais como óleos essenciais, foi avaliada a eficácia de *Thymus vulgaris*. Previamente aos testes em têxteis, foi avaliada *in vitro* a atividade antimicrobiana do óleo essencial para todos os microrganismos a testar, de forma a selecionar as concentrações de *T. vulgaris* a usar no têxtil. A avaliação do valor da CMI foi efetuada como referido em material e métodos e de acordo com as normas disponíveis para bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Os valores da CMI variaram de acordo com os microrganismos. Assim, *P. aeruginosa* foi o microrganismo que apresentou o valor de CMI mais elevado (5 $\mu\text{L/mL}$) e *T. rubrum* foi o que apresentou menor valor de CMI (0,04 $\mu\text{L/mL}$). Os restantes apresentaram uma sensibilidade intermédia, relativamente aos anteriores, com um valor de CMI de 0,32 $\mu\text{L/mL}$ para *C. albicans* e de 0,16 $\mu\text{L/mL}$ para *E. coli* e *S. aureus*.

Antes de avançar para a preparação de têxteis funcionalizados com diferentes concentrações de *T. vulgaris*, procedeu-se a um ensaio por imersão de amostras de têxteis sem atividade antimicrobiana em soluções de óleo com concentração que variou de 2,5 e 0,32 $\mu\text{L/mL}$. Os resultados de um ensaio usando a amostra de têxtil S1-T5 estão representados na ilustração 14, como exemplo.

Atividade antimicrobiana em têxteis

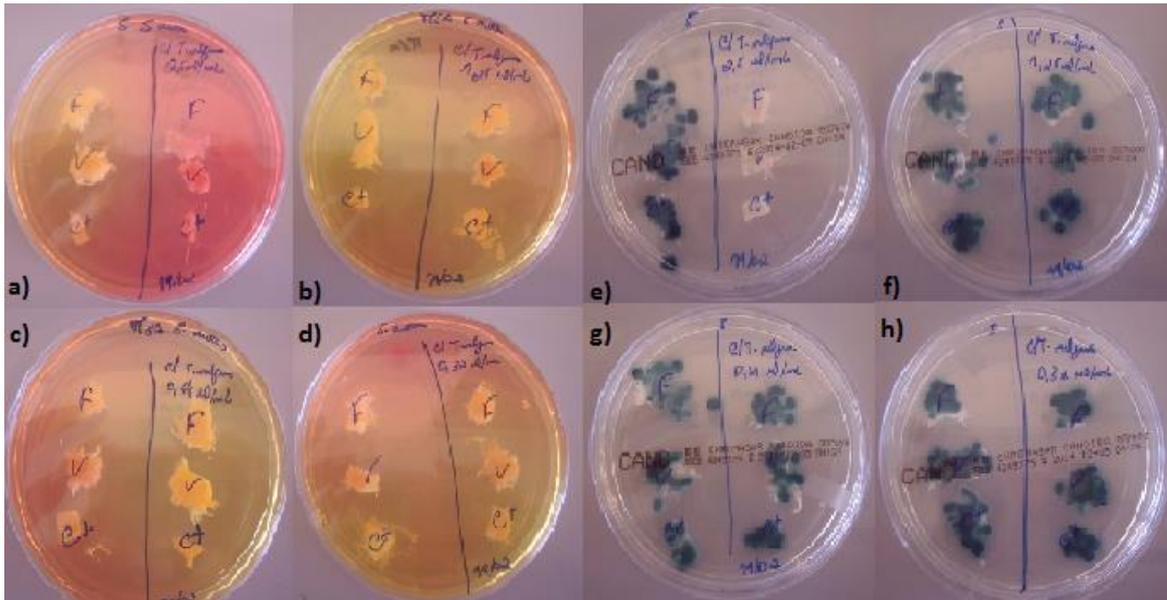


Ilustração 15: Diferentes concentrações de *T. vulgaris* impregnadas no têxtil S1-T5 e testadas segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil. (lado esquerdo da placa: têxtil mergulhado na suspensão de microrganismo e lado direito da placa: têxtil mergulhado nas diferentes concentrações de *T. vulgaris* e no microrganismo). **a), b), c) e d)** correspondem à impregnação com as concentração de óleo de 2,5, 1,25, 0,64 e 0,32 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente, e testadas para *S. aureus*; **e), f), g) e h)** correspondem à impregnação com as concentração de óleo de 2,5, 1,25, 0,64 e 0,32 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente, e testadas para *C. albicans*.

A análise dos resultados obtidos para este têxtil permitiu concluir que a concentração da solução de óleo teria que ser superior à do valor de CMI encontrado e referido anteriormente. Assim, para *S. aureus* (CMI 0,16 $\mu\text{L/mL}$) e *C. albicans* (CMI 0,32 $\mu\text{L/mL}$), apenas a concentração de 2,5 $\mu\text{L/mL}$ mostrou atividade, tal como evidenciado na ilustração 14. Devido à resistência mostrada pela *P. aeruginosa*, todos os têxteis (S1 e S2) foram mergulhados em *T. vulgaris* com concentrações de 5 e 2,5 $\mu\text{L/mL}$, tal como evidenciado na ilustração 15.

Todas as amostras da primeira e segunda série, que não tinham apresentado qualquer atividade antimicrobiana, foram testadas depois de impregnadas com concentração de 5 e 2,5 $\mu\text{L/mL}$ de *T. vulgaris*. Com estas concentrações todas as amostras mostraram atividade contra todos os microrganismos em estudo. Assim, a concentração de 2,5 $\mu\text{L/mL}$ de *T. vulgaris*, impregnada nas amostras de têxteis testados (S1:T2-T9, S2:T2,T4,T5,T6 e controlo algodão), mostrou eficácia na inibição do crescimento de *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *T. rubrum*. No caso de *P. aeruginosa* a concentração de 5 $\mu\text{L/mL}$ não foi suficiente para inibir o crescimento nos têxteis S2:T5 e T6. Estes resultados foram igualmente confirmados em meio líquido.

Atividade antimicrobiana em têxteis

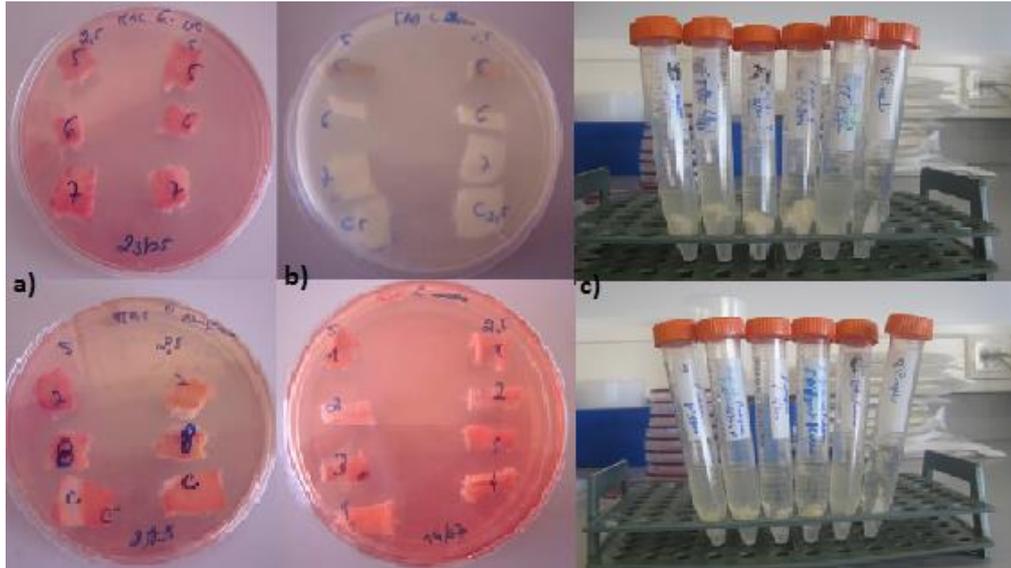


Ilustração 16: Têxteis mergulhados na solução de *T. vulgaris* com concentração de 5 e 2,5 $\mu\text{L/mL}$ e testados segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil. **a)** Têxteis S1: T5-T7 sem crescimento de *E. coli* (ilustração superior) e têxteis S1: T7-T8 sem crescimento de *P. aeruginosa* (ilustração inferior) **b)** Têxteis S2: T5-T7 sem crescimento de *C. albicans* (ilustração superior) e têxteis S2:T1-T4 sem crescimento de *S. aureus* (ilustração inferior) **c)** Os têxteis S1:T2 (F/V) com *T. vulgaris* com concentração de 5 $\mu\text{L/mL}$ em MHB, crescimento nos dois primeiros tubos (têxtil (F/V) mergulhado no microrganismo); sem crescimento nos dois tubos do meio sem crescimento (têxtil (F/V) previamente mergulhado em *T. vulgaris*).

Concluídos estes ensaios prévios de avaliação da atividade antimicrobiana de *T. vulgaris* nos microrganismos testados, antes e após a incorporação nos têxteis, bem como das concentrações necessárias para conseguir a inibição, prosseguimos com a preparação da terceira série de têxteis, funcionalizados com o óleo essencial. Os têxteis da série 3 foram desenvolvidos na Universidade do Minho a partir de têxteis previamente testados e que não sendo tratados não apresentavam qualquer atividade antimicrobiana, algodão e poliéster. No algodão foram incorporados 5 e 20 $\mu\text{L/mL}$ de óleo (amostras S3-T1 e S3-T2) e no poliéster 5, 10 e 20 $\mu\text{L/mL}$ de óleo (amostras S3-T3, S3-T4 e S3-T5, respetivamente). Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 15 e na ilustração 16.

Neste grupo de têxteis apenas mostrou atividade a amostra S3-T2 (algodão com *T. vulgaris* na concentração 20 $\mu\text{L/mL}$) contra *S. aureus*, *E. coli* e *T. rubrum*. Considerando a atividade inibitória observada em *T. rubrum*, e o interesse dos têxteis antimicrobianos para impedir o desenvolvimento de dermatófitos em calçado ou meias, esta amostra foi testada noutros géneros e espécies igualmente envolvidas no pé de atleta, nomeadamente *M. canis*, *M. gypseum* e *E. floccosum*. Contudo, não revelou atividade para essas espécies e na concentração testada.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 15: Resultado da atividade antimicrobiana para os têxteis S3:T1-T5, funcionalizados com *T. vulgaris*, segundo o método de inoculação dos microrganismos no têxtil.

Têxtil	Microrganismos							
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>M. canis</i>	<i>M. gypseum</i>	<i>E. floccosum</i>
S3-T1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
S3-T2	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
S3-T3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
S3-T4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
S3-T5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
Controlo negativo (Algodão)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Controlo negativo (Poliéster)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
Controlo da Solução (Algodão)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Controlo de Solução (Poliéster)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)			
Controlo positivo (Algodão)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Controlo positivo (Poliéster)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			

Legenda: Controlo: 100% algodão; (+): Crescimento do microrganismo no têxtil; (-): Ausência de crescimento do microrganismo no têxtil; ■ Têxteis não testados para o microrganismo.

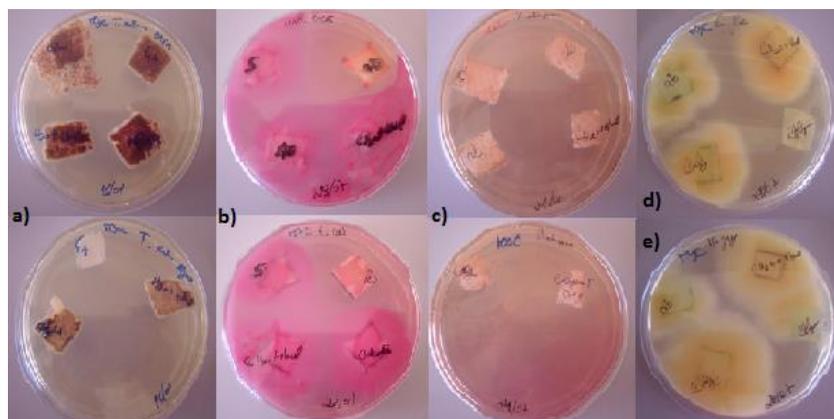


Ilustração 17: Exemplo de crescimento de diferentes microrganismos segundo o método de inoculação dos têxteis S3. **a)** Crescimento de *T. rubrum* nos têxteis S3:T3-T5 (ilustração superior); ausência de crescimento no têxtil S3-T2 (ilustração inferior); **b)** Crescimento de *E. coli* nos têxteis S3:T3-T5 (ilustração superior); ausência de crescimento no têxtil S3-T2; **c)** Crescimento de *P. aeruginosa* nos têxteis S3:T3-T5 e ausência de crescimento no controlo positivo, poliéster; **d)** e **e)** Crescimento no têxtil S3-T2 de *E. floccosum* e *M. gypseum* respetivamente e ausência de crescimento no controlo positivo, algodão.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Esta série de amostras foi observada microscopicamente, com objetiva de 10 x, tendo-se confirmado os resultados observados macroscopicamente. Ao microscópio foi possível observar ausência de crescimento no controlo positivo (algodão ou poliéster com *T. vulgaris* impregnado segundo o método descrito em 6.6.2). Pelo contrário no controlo negativo (algodão ou poliéster), no controlo da atividade do solvente e nos têxteis S3:T1,T3, T4 e T5 foi visível o crescimento de microrganismos.

Por esta metodologia, inoculação dos microrganismos nos têxteis, o têxtil S1-T5 foi funcionalizado com AgNO_3 em diferentes concentrações e testado para todos os microrganismos. O têxtil foi testado com concentrações de base 2 que variaram entre 17 e 1,05 g/L. Apenas as concentrações mais altas de 17 e 8,5 g/L mostraram atividade. O nitrato de prata não foi explorado ao longo deste trabalho porque era necessária uma elevada concentração para se observar efeito antimicrobiano e este composto nessas concentrações alterava a cor dos têxteis. Os têxteis mergulhados em AgNO_3 ficaram com uma cor escura, tal como evidenciado na ilustração 17.



Ilustração 18: Têxtil S1:T5 mergulhado na solução AgNO_3 e avaliado segundo o método inoculação dos microrganismos no têxtil, inibição de crescimento de *S. aureus* nas concentrações de 17 g/L e 8,5 g/L.

7.2.2 Inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura

Esta metodologia foi desenvolvida para confirmar os resultados da metodologia anterior. Os resultados para todas as amostras foram iguais aos descritos anteriormente na metodologia por inoculação dos microrganismos no têxtil.

Assim, os têxteis S1:T2-T9 não mostraram atividade antimicrobiana por qualquer um dos três métodos de avaliação testados. As três metodologias mostraram concordância de resultados para amostras sem atividade.

Os têxteis S2:T1, T3 e T7 mostraram atividade contra os microrganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *T. rubrum*. O têxtil S2-T7, neste método, mostrou atividade contra o *S. aureus* desenvolvendo um halo de difusão bem visível em MSA (Ilustração 18).

Atividade antimicrobiana em têxteis



Ilustração 19: Têxteis da Série 2 segundo o método inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura para *S. aureus* (sem crescimento para o têxtil S2-T7 com halo de difusão).

Estes resultados obtidos para as amostras da Série 2 confirmam os resultados obtidos anteriormente, na metodologia não padronizada por impregnação do microrganismo no têxtil.

Os têxteis que mostraram atividade (S2:T1,T3 e T7) foram então testados segundo método padronizado (AATCC147) e os resultados obtidos foram iguais aos resultados nos métodos não padronizados para os têxteis S2: T1,T3 e T7, e relativamente aos microrganismos *E. coli*, *P. aeruginosa* e *T. rubrum*. Contudo, o têxtil S2-T7, que tinha revelado atividade contra *S. aureus* e ausência de atividade contra *C. albicans*, viu invertida a atividade aquando da aplicação do método padronizado. Neste têxtil, no método normalizado, foi observada atividade contra *C. albicans* e a atividade observada contra *S. aureus* nos métodos não padronizados desapareceu, tal como evidenciado na tabela 16 e na ilustração 19. Assim, para este têxtil e estes microrganismos (*C. albicans* e *S. aureus*) não foi possível confirmar os resultados usando os dois tipos de técnicas aplicadas, padronizadas e não padronizadas. Nesta determinação foram utilizados o controlo negativo (100% algodão) e o controlo positivo algodão com 5 µL/mL de *T. vulgaris* (segundo o método descrito anteriormente no ponto 6.6.2.a), assim como meios seletivos e diferenciais para confirmar as diferenças observadas no têxtil S2:T7 para *C. albicans* e *S. aureus*. No controlo negativo foi observado crescimento de todos os microrganismos e no controlo positivo não se observou crescimento dos microrganismos, de acordo com o esperado, sendo possível validar a técnica e proceder à leitura das restantes amostras.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Tabela 16: Resultados de atividade antimicrobiana para os têxteis S2-T1, S2-T3 e S2-T7, segundo a norma AATCC 147.

Têxtil	Microrganismos				
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>T. rubrum</i>
S2-T1	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
S2-T3	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
S2-T7	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Controlo	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Controlo com 5 µL/mL de <i>T. vulgaris</i>	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Legenda: Controlo:100% algodão; (+): Crescimento do microrganismo no têxtil; (-): Ausência de crescimento do microrganismo no têxtil.

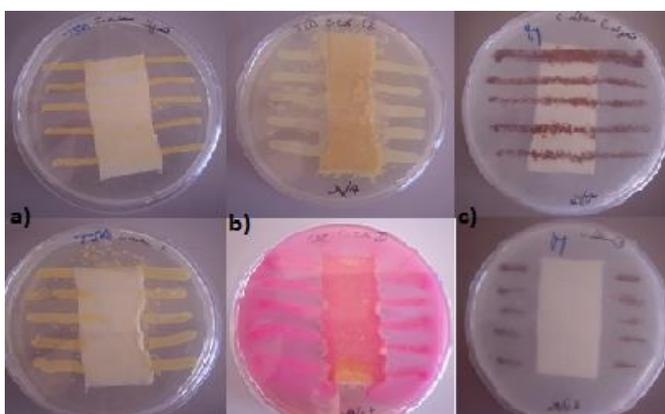


Ilustração 20: Exemplo do crescimento dos diferentes microrganismos em placa segundo o método AATCC 147. a) Crescimento de *S. aureus* no controlo negativo (ilustração superior) e no S2-T7 (ilustração inferior), no meio de TSA; b) Inibição do crescimento de *E. coli* pelo têxtil S2-T3 em TSA (ilustração superior) e em MAC (ilustração inferior); c) Crescimento de *C. albicans* no controlo negativo (ilustração superior) e inibição do crescimento de *C. albicans* pelo têxtil S2-T7 (ilustração inferior), no meio de Biggy Agar.

Os têxteis funcionalizados, S3:T1-T5, foram testados de acordo com o método de inoculação dos microrganismos em tapete no meio e os resultados foram iguais aos anteriormente descritos, ou seja, foi observada atividade no têxtil S3:T2 contra os microrganismos *S. aureus*, *E. coli* e *T. rubrum*.

Após comparação dos resultados obtidos para os têxteis funcionalizados com *T. vulgaris* e os resultados dos têxteis impregnados com *T. vulgaris* (método utilizado no laboratório), colocou-se a questão do efeito da temperatura e do solvente usado no processamento das amostras da série 3 na perda de atividade verificada com a funcionalização do têxtil. Assim, para avaliar o efeito dos solventes na atividade do *T. vulgaris* foram aplicados os solventes soro fisiológico/DMSO e água/etanol em amostras de algodão e poliéster. Estas amostras foram ainda sujeitas a diferentes temperaturas de secagem de forma a avaliar se a perda de atividade ocorrida nos têxteis funcionalizados com o óleo, comparativamente aos

Atividade antimicrobiana em têxteis

mergulhados na solução do óleo, se devia à perda do antimicrobiano por evaporação: secaram a 50°C após terem sido mergulhos na solução de óleo, e posteriormente esterilizados a 180°C (procedimento igual ao efetuado nos têxteis funcionalizados S3:T1-T5); foram inicialmente esterilizados a 180°C e depois mergulhados na solução de *T. vulgaris* e secos a 50°C; e foram inicialmente esterilizados a 180°C e depois mergulhados na solução de *T. vulgaris* e secos a 37°C (procedimento igual ao descrito anteriormente no ponto 6.6.2 a) e avaliados segundo o método inoculação dos microrganismos em tapete no meio. Neste ensaio houve crescimento do microrganismo *S. aureus*, de acordo com o esperado, e foi concluído que os solventes utilizados para imobilizar o óleo ao têxtil não interferem na atividade do *T. vulgaris*, tal como evidenciado na ilustração 20.

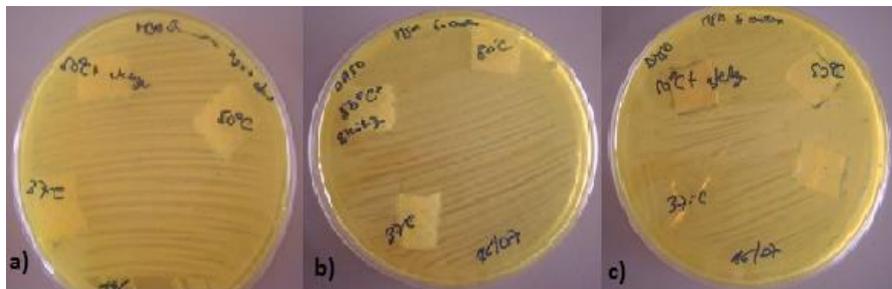


Ilustração 21: Efeito das soluções soro fisiológico/DMSO e água/etanol no *S. aureus*. **a) e c)** Crescimento de *S. aureus* nas soluções água/etanol no têxtil poliéster e em soro fisiológico/DMSO no têxtil algodão respectivamente; **b)** Crescimento de *S. aureus* na solução soro fisiológico/DMSO no têxtil poliéster.

Em paralelo, os têxteis poliéster e algodão foram sujeitos às condições anteriormente descritas, mas com a presença *T. vulgaris* nos solventes numa concentração de 5 µL/mL. Neste ensaio foram observadas diferenças conforme as temperaturas utilizadas, os têxteis usados (algodão ou poliéster) e a solução testada (soro fisiológico/DMSO ou água/etanol).

Os têxteis de algodão e poliéster quando colocados na solução em soro fisiológico/DMSO com *T. vulgaris* a 5 µL/mL mostraram atividade nas três temperaturas a que foram sujeitos, como evidenciado na ilustração 21.

Atividade antimicrobiana em têxteis

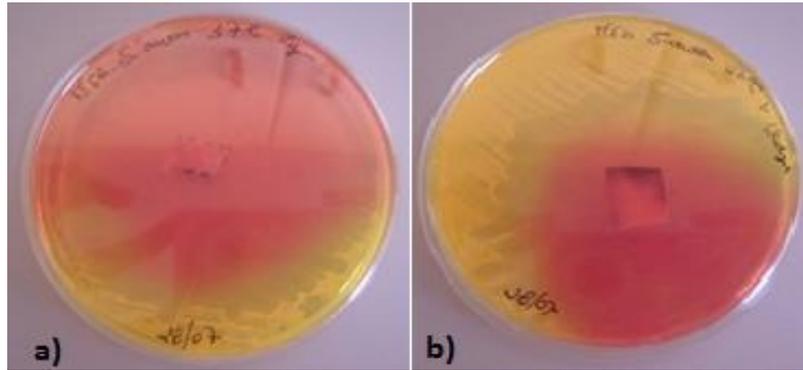


Ilustração 22: Efeito da temperatura nas amostras algodão e poliéster com o solvente soro fisiológico/DMSO e *T. vulgaris* a 5 μ L/mL em *S. aureus*. a) Poliéster seco a 37°C, inibição de crescimento de *S. aureus*; b) Algodão seco a 50°C e posteriormente esterilizado a 180°C, inibição de crescimento de *S. aureus*.

Os têxteis de poliéster e algodão mergulhados no solvente água/etanol com *T. vulgaris* numa concentração de a 5 μ L/mL mostraram atividade apenas quando sujeitos a 37°C, perdendo gradualmente atividade, principalmente no poliéster seco a 50°C e seco 50°C com posterior esterilização a 180°C (Ilustração 22).

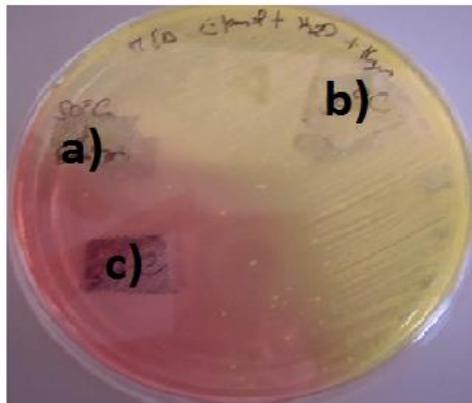


Ilustração 23: Efeito da temperatura nas amostras de algodão e poliéster com o solvente água/etanol e *T. vulgaris* a 5 μ L/mL em *S. aureus*. a) Algum crescimento de *S. aureus* no poliéster seco a 50°C; b) Crescimento de *S. aureus* no poliéster seco a 50°C e posteriormente esterilizado; c) Ausência de crescimento de *S. aureus* no poliéster seco a 37°C.

Foi possível concluir que na presença do óleo na concentração testada (5 μ L/mL) a variação do solvente e as diferentes temperaturas a que o têxtil está sujeito afetam a atividade antimicrobiana do *T. vulgaris*.

Discussão

8. Discussão

O objetivo de oferecer ao consumidor conforto, higiene e bem-estar criou um novo mercado competitivo com crescimento rápido na indústria têxtil, os têxteis antimicrobianos. Estes oferecem e comprometem-se a controlar os odores e resistir à degradação antimicrobiana (Gao e Cranston 2008). Contudo, outro objetivo importante é a eliminação de microrganismos patogênicos dos têxteis.

Para determinar a atividade antimicrobiana de têxteis naturais ou sintéticos ou atividade de substâncias antimicrobianas funcionalizadas nos têxteis foram efetuados testes que se adaptaram de forma a possibilitar a leitura mais inequívoca possível e, posteriormente estes resultados foram confirmados segundo o estabelecido pelas normas.

Numa primeira abordagem, a primeira dificuldade encontrada no desenvolvimento deste trabalho correspondeu à esterilidade das amostras. Para a avaliação da atividade antimicrobiana de um têxtil, contra um determinado tipo de microrganismo, era indispensável que as amostras estivessem estéreis, uma vez que são inoculadas com microrganismos teste. A ausência de esterilidade nestas amostras dificultaria a leitura dos resultados, pois deixaria de ser perceptível se cresciam as bactérias/fungos patogênicos que inoculamos ou outros microrganismos presentes nos têxteis. A esterilização indicada para diferentes materiais, incluindo os têxteis, está descrita como sendo em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Contudo, no nosso trabalho, esta esterilização mostrou-se ineficaz havendo crescimento de microrganismos, particularmente do género *Bacillus*, nos meios de cultura. Esta dificuldade foi ultrapassada utilizando uma esterilização a seco com temperaturas mais elevadas e com um maior período de tempo, tendo sido utilizada a esterilização em estufa durante 90 minutos a 180°C. A esterilização a seco mostrou-se eficaz na eliminação de microrganismos nas amostras têxteis.

Tendo em conta as metodologias utilizadas foi necessário definir o controlo, assim sendo o têxtil escolhido foi o algodão. Os resultados foram validados e lidos quando foi observado crescimento dos microrganismos inoculados no algodão. Vários estudos mostraram que o algodão e o poliéster sem qualquer adição de antimicrobiano, isto é, 100% algodão e 100% poliéster não apresentaram qualquer atividade contra os microrganismos, apenas quando lhes é impregnado ou incorporado agente antimicrobiano é que revelam atividade contra as bactérias/fungos.

Vários estudos mostraram ao longo dos últimos anos a boa atividade antimicrobiana da prata. O efeito antimicrobiano da prata está diretamente relacionado com a quantidade de prata existente e com a sua libertação para o meio. Panáček e os seus colaboradores, em

Atividade antimicrobiana em têxteis

2006, investigaram a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata, e concluíram que a sua atividade dependia do tamanho das nanopartículas, e que partículas com 25 nm possuíam boa atividade contra bactérias de Gram-positivo e de Gram-negativo. Num outro estudo realizado por Durán e os seus colaboradores, em 2007, foram avaliadas as propriedades antimicrobianas de nanopartículas de prata quando incorporadas em materiais têxteis. O seu estudo baseou-se em amostras de algodão impregnadas com nanopartículas e inoculadas com *S. aureus*. Concluíram que o algodão impregnado com nanopartículas de prata possuía atividade antimicrobiana.

No nosso estudo, em vez de algodão com prata foi usado o poliéster impregnado com sais de prata, denominado como poliéster bioativo. Este poliéster foi testado em algumas das amostras da série 1 e 2. Nas amostras que o continham, estava presente como ligante ou estava presente numa das faces (têxteis 3D-S1) ou de ambos os lados (têxteis 2D-S2). Os têxteis que continham o poliéster bioativo eram o S1:T2,T3,T8 e T9 e S2:T2 e T4. Estas amostras não mostraram qualquer atividade antimicrobiana para os microrganismos testados nem segundo qualquer um dos métodos utilizados. Concluímos que nas condições utilizadas os sais de prata não se mostraram eficazes, ou seja, o têxtil em que foram aplicados pode condicionar a sua atividade. É também relevante referir que é desconhecida a concentração de sais de prata aplicados, e possivelmente a concentração utilizado podia estar abaixo do indicado para exercer atividade, por diluição devida à presença de outras fibras no têxtil. Contudo, quando foi testado o têxtil de 100% poliéster bioativo, amostras S2-T2 e T4, não foi verificada qualquer atividade inibitória e essa ausência de efeito não se relacionou com a diferença de aperto do têxtil. Nestas condições, os nossos resultados não estão concordantes com os descritos por outros autores, como previamente referido. A concentração dos compostos antimicrobianos, o processo de incorporação nos têxteis, a composição do têxtil e o processamento dos próprios têxteis podem ser parâmetros responsáveis pela variação de resultados observada. Em conclusão, têxteis (S2-T2 e T4) indicados como tendo propriedades antimicrobianas não revelaram, nas condições deste estudo, essas capacidades. É disso exemplo o poliéster bioativo que possui de prata ligada à fibra, e está descrito pela marca Trevira® como tendo uma boa atividade antimicrobiana que não é afetada pelo desgaste nem pelas lavagens.

O bambu é apresentando como uma fibra natural com atividade antimicrobiana contra bactérias de Gram-positivo e bactérias Gram-negativo. Esta propriedade deve-se à presença de compostos fenólicos na sua composição e segundo os chineses esta capacidade deve-se ao agente bacteriostático *kun*. Estas fibras têm sido utilizadas em diferentes áreas incluindo na área têxtil, no entanto ainda não existem evidências científicas suficientes que provem a sua atividade como antimicrobiano nesta área (Afrin et

Atividade antimicrobiana em têxteis

al. 2012; Xi et al. 2013). Alguns autores avaliaram a resistência do bambu contra *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* e concluíram que não havia efeito contra estes microrganismos (Xi et al. 2013). No nosso estudo, os têxteis S1:T4-T9 continham bambu na sua composição, ou seja, o bambu foi utilizado numas das faces ou como ligante e os têxteis S2:T1 e T3 eram 100% bambu. As amostras da primeira série, que continham bambu associado a outras fibras, não mostraram qualquer atividade antimicrobiana. Apenas as amostras constituídas por 100% de bambu, e independentemente do grau de aperto - S2:T1 e T3, mostraram atividade contra a *P. aeruginosa*, *E. coli* e *T. rubrum*. Tendo em conta este resultado foi possível concluir que o bambu mostra atividade quando utilizado como uma fibra única em 2D e quando é diluída noutra fibra, como aconteceu nos têxteis da Série 1 (têxteis 3D), não mostrou a sua atividade e os microrganismos conseguiram crescer nos têxteis testados. Os nossos resultados confirmam os apresentados por outros autores relativamente à falta de eficácia contra *C. albicans* e *S. aureus*. Contudo, no nosso ensaio, e nas condições usadas, foi mostrada suscetibilidade de *E. coli*, contrariando o resultado de Xi e colaboradores em 2013. Para verificarmos esta discrepância de resultados seria necessário confirmar usando rigorosamente a mesma metodologia, a qual pode fazer variar o resultado, como aliás foi possível verificar ao longo do nosso trabalho.

RUCO-BAC AGP é um antimicrobiano e na amostra S2-T7 foi aplicado no algodão segundo o método de impregnação com uma taxa de impregnação de 70%. De acordo com o fabricante, é uma preparação de sais inorgânicos e surfactantes utilizada no acabamento de têxteis higiénicos e que pode ser aplicada em todo o tipo de fibras. As funções descritas são atividade bactericida e propriedades levemente fungicidas. Apresenta também elevada resistência a lavagens e limpeza a seco (Rudolf Chemie 2013).

O têxtil S2-T7 era algodão branqueado impregnado com Ruco-BAC AGP, sendo esperada a sua atividade contra todos os microrganismos. Tendo em conta as características descritas, era esperado que houvesse inibição do crescimento de todas as bactérias e fungos testados. Nos métodos não padronizados, inoculação dos microrganismos no têxtil e inoculação dos microrganismos em tapete no meio de cultura, este têxtil inibiu todas as bactérias testadas e o dermatófito *T. rubrum*, não sendo observada atividade para *C. albicans*. No método padronizado a levedura *C. albicans* e a bactéria *S. aureus* mostraram diferenças em relação aos métodos não padronizados. O têxtil S2:T7 mostrou atividade para *C. albicans* e deixou de mostrar atividade para *S. aureus*. Esta diferença foi confirmada por este método utilizando meios diferenciais.

Como controlo para este têxtil tinha sido relevante utilizar o algodão branqueado sem o antimicrobiano para perceber se os resultados obtidos para o têxtil S2-T7 se devia à

Atividade antimicrobiana em têxteis

atividade do antimicrobiano ou se o algodão branqueado teria algum efeito nestes resultados, contudo neste estudo não foi possível verificar se existia alguma diferença.

Thymus vulgaris foi descrito em vários estudos como tendo propriedades antimicrobianas. Este óleo essencial contém na sua composição uma complexa mistura de compostos voláteis e não voláteis produzidos pela planta como metabolitos (Chang et al. 2012). O estudo de Vaz e seus colaboradores, em 2004, mostrou que o carvacrol era o composto presente em maior quantidade neste óleo essencial e que este composto é responsável, pelo menos em parte, pelas características antimicrobianas deste óleo. O timol, outro constituinte do óleo, demonstrou ter um efeito antibacteriano 30 vezes maior e 4 vezes menor efeito tóxico que o fenol (Mollarafie et al. 2015).

Com o objetivo de avaliarmos a capacidade de óleos essenciais com propriedades antimicrobianas poderem ser usados para funcionalizar têxteis, tornando-os antimicrobianos, levou-nos a testar *T. vulgaris* por incorporação nos têxteis que não apresentavam atividade antimicrobiana. Essa avaliação conduziu-nos, e como referido nos resultados, à conclusão da necessidade de incorporar uma maior concentração de *T. vulgaris*, relativamente ao valor de CMI determinado, e de que a concentração de 5 µL/mL era suficiente para inibir todos os microrganismos testados. Na realidade, estas amostras foram sujeitas a uma secagem durante 24 horas a 37°C, o que pode justificar uma diminuição de atividade do óleo por evaporação, relativamente ao método da avaliação da CMI em microplaca e meio líquido. Por outro lado, o contacto entre o óleo e o microrganismo é muito mais íntimo na microdiluição em placa do que na técnica de impregnação no têxtil, o que igualmente pode justificar esse aumento da concentração eficaz. Todos os têxteis da Série 1 e 2 não ativos foram testados com *T. vulgaris* nas concentrações de 5 µL/mL e 2,5 µL/mL, segundo o método de inoculação de microrganismos em têxteis. Segundo esta técnica todos os têxteis mostraram atividade contra todos os microrganismos, exceto os têxteis S2-T5 e S2-T6 para *P. aeruginosa*. Esta bactéria foi a que mostrou um maior valor de CMI (superior a 5 µL/mL), por isso este resultado podia ser explicado pela CMI desta bactéria, no entanto a concentração de 5 µL/mL mostrou atividade para os restantes têxteis. Além disto, S2-T5 e S2-T6 correspondem a algodão cru e poliéster respetivamente, logo este resultado não está de acordo com os resultados obtidos anteriormente, uma vez que o algodão quando impregnado com *T. vulgaris* na concentração de 5 µL/mL e utilizado como controlo positivo, mostrou atividade, ou seja, não foi observado crescimento bacteriano/fúngico. A natureza e estrutura bidimensional ou tridimensional do têxtil não parece afetar a atividade do *T. vulgaris*.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Neste estudo o *T. vulgaris* foi funcionalizado nos têxteis de algodão e poliéster nas concentrações de 5, 10 e 20 µL/mL (terceira série de têxteis). Após termos verificado a necessidade de incorporar uma maior concentração de *T. vulgaris*, relativamente ao valor de CMI determinado, e que a concentração de 5 µL/mL era suficiente para inibir todos os microrganismos testados, usamos essa concentração como a mínima, 2 vezes e 4 vezes essa concentração. As soluções do óleo usadas nos ensaios no laboratório foram, como previamente indicado, preparadas em soro fisiológico/DMSO. Contudo, quando da funcionalização dos têxteis com essa solução foi observada uma reação de libertação de vapores que conduziu ao uso de soluções preparadas no solvente água/etanol, e de acordo com experiência prévia da sua utilização. A escolha deste solvente teve por base os resultados apresentados por alguns autores, como é o caso do estudo de Shahidi e seus colaboradores, em 2014, que mostraram a inibição dos microrganismos utilizando concentrações de 7% de timol em água/etanol (85:15). Assim, o departamento têxtil da Universidade do Minho fabricou a terceira série de têxteis, utilizando o *T. vulgaris* diluído no solvente água/etanol (60:40).

Como apresentado nos resultados, as amostras de poliéster funcionalizadas com *T. vulgaris* (S3:T3-T5) não mostraram qualquer atividade contra os microrganismos testados, mesmo para a concentração de 4 vezes a observada em laboratório. Apenas o têxtil S3-T2, de algodão funcionalizado com 20 µL/mL de *T. vulgaris* mostrou atividade contra *E. coli*, *S. aureus* e *T. rubrum*. Outros dermatófitos foram testados neste têxtil, contudo não foi observada atividade antimicrobiana. A atividade apresentada pela amostra S3-T2 não foi da responsabilidade do solvente usado (água/etanol), uma vez que os microrganismos cresceram quando o têxtil (algodão/poliéster) foi embebido na solução do solvente e testado.

A falta de atividade das amostras contendo o óleo numa concentração 4 vezes superior à concentração ativa, obtida pelo método da impregnação, não pode ser da responsabilidade da atividade do princípio ativo uma vez que no controlo positivo por impregnação a uma concentração 4 vezes mais baixa se observou atividade.

É possível que o *T. vulgaris*, sendo um óleo essencial, tenha desaparecido total ou parcialmente quando sujeito ao processo de esterilização, uma vez que para além da sua natural volatilidade, nos têxteis funcionalizados se encontra numa mistura com o etanol, o que poderia facilitar a sua evaporação. A perda de atividade e a necessidade de concentrações muito elevadas poderiam explicar a ausência de efeito para as concentrações de 5 e de 10 µL/mL. Comparando com o método de impregnação no laboratório, em que o têxtil é esterilizado antes da impregnação e apenas sujeito a uma secagem a 37°C por 24 horas, neste caso o têxtil é esterilizado após a funcionalização. Contudo, para a concentração máxima testada, 20 µL/mL, foi verificado efeito para as fibras

Atividade antimicrobiana em têxteis

de algodão não tendo sido verificado efeito para as fibras de poliéster. As fibras de poliéster são mais largas que as fibras de algodão, o que pode justificar uma maior perda por evaporação devida a uma menor capacidade de retenção dos compostos. A questão de a temperatura, principalmente a temperatura usada durante esterilização, ser responsável pela perda de atividade do *T. vulgaris* foi avaliada. Os têxteis funcionalizados foram esterilizados e testados e foram usados diretamente sem processo de esterilização. Independentemente da possibilidade de aparecer crescimento de contaminantes, foi possível observar que a perda de atividade também era verificada no têxtil não sujeito a essa elevada temperatura. Com base neste resultado, restava concluir que a perda de atividade ocorreria durante o processo de funcionalização do têxtil em que são aplicadas temperaturas elevadas. Quando os têxteis de algodão e poliéster impregnados de *T. vulgaris* foram secos a diferentes temperaturas, a atividade foi diminuindo relacionando-se com a elevação da temperatura. Neste ensaio a atividade foi mais dependente da temperatura nas amostras mergulhadas na solução de funcionalização (água/etanol) do que na solução de ensaio laboratorial (soro fisiológico/DMSO). Concluiu-se que usando o solvente água/etanol a atividade do *T. vulgaris* desaparece da amostra quando os têxteis são submetidos a elevadas temperaturas. Pelo contrário, quando utilizado o solvente soro fisiológico/DMSO mesmo a elevadas temperaturas o *T. vulgaris* manteve-se ativo para o algodão e poliéster, embora fosse perdendo alguma atividade com o aumento da temperatura a que era submetido. Assim, poderemos sugerir que o etanol não será um bom veículo para óleos essenciais pois com a temperatura a sua evaporação poderá promover uma mais fácil eliminação do óleo. Existem diferentes solventes para preparar a solução de *T. vulgaris* nomeadamente água, etanol, metanol, diclorometano, acetona e hexano, contudo é necessário escolher o solvente de acordo com os procedimentos a que o têxtil vai ser submetido (Gurjar et al. 2012). Neste trabalho o uso do solvente água/etanol mostrou-se inapropriado para o método, o óleo essencial e as concentrações utilizadas. Outros solventes, outros óleos e eventualmente a micro ou nanoencapsulação podem ser soluções para transformar óleos essenciais de atividades antimicrobianas em compostos funcionais quando incluídos em têxteis.

Foi possível ainda concluir que a atividade do *T. vulgaris* em têxteis está dependente do método de aplicação e do material têxtil em que é aplicado, assim como da sua concentração. O seu uso em têxteis poderá revelar-se uma alternativa a alguns antimicrobianos sintéticos desde que melhorada a sua aplicação.

O método normalizado AATCC 147 ao longo do estudo revelou-se de difícil interpretação porque os meios de cultura são da mesma cor dos têxteis e portanto torna-se difícil perceber se existe crescimento microbiano nos têxteis, pelo que foram implementados dois novos métodos não normalizados. Apesar destes métodos não serem

Atividade antimicrobiana em têxteis

normalizados os resultados observados estiveram de acordo com os resultados inicialmente obtidos pela norma. Os têxteis utilizados para comparar os resultados foram os da primeira série, uma vez que estes foram testados pelos três métodos e os resultados observados foram concordantes entre si. O uso de meios diferenciais e seletivos também se revelou um grande apoio na leitura dos resultados, uma vez que o desenvolvimento de cor dos microrganismos era também observada nos têxteis e assim facilmente detetada a presença ou ausência de crescimento bacteriano/fúngico, podendo ser aplicados no método normalizado. Durante o estudo foram também utilizados meio líquidos inoculados com têxteis e microrganismos, para ser observada a presença ou ausência de crescimento. Estes meios serviram essencialmente para demonstrar que a ausência de crescimento de microrganismos nos meios em placa não se devia ao íntimo contacto entre o têxtil e o agar, mas sim a atividade dos têxteis.

Conclusões e Perspetivas futuras

9. Conclusões e Perspetivas futuras

A indústria têxtil é essencial no nosso quotidiano, e a aplicação da ciência e tecnologia ao longo da história melhorou as propriedades dos têxteis tornando-os mais seguros e eficazes.

Sem dúvida que a avaliação da atividade antimicrobiana de produtos têxteis descritos como tendo essas propriedades é necessária, uma vez que se encontram rotulados com essas características.

No nosso estudo ficou concluído e demonstrado que a atividade de um antimicrobiano é dependente do método de aplicação, do processamento que sofre durante a sua fabricação, dos procedimentos aplicados para avaliar a atividade e ainda da natureza e tipo de têxtil (2D ou 3D). Concluímos que os têxteis 2D com Bambu mostraram eficácia contra alguns microrganismos e que, pelo contrário, quando esta fibra foi aplicada em têxteis 3D, associada a outras fibras, não demonstrou qualquer atividade.

O nosso estudo relevou a capacidade antibacteriana/antifúngica de alguns têxteis referenciados na literatura como tendo essa capacidade. Contudo, alguns têxteis indicados como tendo estas propriedades não as revelaram, nas condições deste estudo.

O uso, pela indústria, de antimicrobianos naturais está a aumentar devido às suas características. Neste estudo foi demonstrada a boa capacidade antimicrobiana do *T. vulgaris*, um óleo essencial vulgarmente conhecido por tomilho.

Futuramente seria relevante melhorar o seu método de incorporação nos têxteis utilizando por exemplo, os métodos de microencapsulação. Como já descrito em alguns estudos, este método pode ser uma boa alternativa para evitar o seu desaparecimento dos produtos têxteis.

Concluímos também que os métodos não padronizados utilizados melhoraram a leitura dos resultados e comparativamente com a metodologia normalizada AATCC 147, mostram resultados semelhantes, exceto para um têxtil da segunda série que os resultados para *S. aureus* e *C. albicans* foram diferentes, como abordado anteriormente. Na norma AATCC 147, sendo a norma de referência para determinar qualitativamente a atividade antimicrobiana, poderiam ser introduzidos os meios de cultura diferenciais, que facilitam a identificação do crescimento microbiano, como demonstrado ao longo deste trabalho.

Num estudo futuro seria importante avaliar os têxteis que mostraram atividade pelo método quantitativo AATCC 100- Avaliação da atividade antibacteriana em materiais têxteis, para avaliar a taxa de redução de microrganismos nos têxteis e assim, determinar capacidade antimicrobiana de cada têxtil.

Apesar de existirem diversos estudos que mostram a atividade antibacteriana/antifúngica de antimicrobianos naturais e sintéticos e de têxteis funcionalizados com estes

Atividade antimicrobiana em têxteis

compostos é ainda necessário desenvolver outros estudos mais conclusivos que demonstrem a capacidade antimicrobiana de têxteis funcionalizados e a sua aplicabilidade em têxteis, como exemplo, em têxteis utilizados no fabrico de calçado. Para que o seu uso pelo consumidor seja seguro, seria ainda necessário avaliar a citotoxicidade dos antimicrobianos, uma vez que os produtos têxteis estão em contacto direto com a pele. Questões como a durabilidade da eficácia ao longo do tempo também necessitam de ser ultrapassadas pela indústria. Os antimicrobianos são essencialmente perdidos nas lavagens, por isso estudos que demonstrem esta perda são também indispensáveis em têxteis funcionalizados futuramente.

Concluimos com este estudo que ainda muito trabalho precisa de ser feito, de forma a tornar o uso de têxteis antimicrobianos uma realidade com resultados comprovados e sem riscos para o consumidor. Podendo ser utilizados em diferentes áreas.

Referências bibliográficas

Atividade antimicrobiana em têxteis

Afrin T, Tsuzuki T, Kanwar RK, Wang X. The origin of the antibacterial property of bamboo. *J Text Inst.* 2012; 103(8): 844–9.

Ahmed F, Shaikh IA, Ahmad I, Munir S, Zameer M, Hussain T. Developments in Health Care and Medical Textiles - A Mini Review-1. *Pak J Nutr.* 2014; 13 (12): 780–3.

Aluigi A, Vineis C, Ceria A, Tonin C. Composite biomaterials from fibre wastes: Characterization of wool–cellulose acetate blends. *Compos Part A Appl Sci Manuf.* 2008; 39 (1):126–32.

American Association of Textile Chemists and Colorists. AATCC Test Method 30-2004 Antifungal Activity, Assessment on Textile Materials: Mildew and Rot Resistance of Textile Materials. 2001. p. 78–80.

American Association of Textile Chemists and Colorists. AATCC Test Method 147-2004: Assessment of Antimicrobial Finishes on Textile Materials: Parallel Streak Method. 2007. p. 259–60.

American Association of Textile Chemists and Colorists. AATCC Test Method 100-2004: Antibacterial Finishes on Textile Materials: Assessment of. 2009. p. 142–4.

APICCAPS. Calçado, Componentes e Artigos de Pele MONOGRAFIA ESTATÍSTICA 2014. Disponível em: http://www.apiccaps.pt/c/document_library/get_file?uuid=6c1bceac-73b5-4f54-b7d0-3a117ad7be69&groupId=10136. 2014. [acedido em 16 de Julho de 2015].

Arshad K, Mujahid M. Biodegradation of Textile Materials. [Dissertação]. Suécia: Textile Technology The Swedish School of Textiles; 2011.

Associação Empresarial de Portugal. Manual de Produção + Limpa da Indústria Têxtil. BenchMark A+E; 2011 .p.9–153. Disponível em: <http://benchmarkae.aeportugal.pt/Downloads/Resultados/Manual%20de%20Produ%C3%A7%C3%A3o%20mais%20Limpa%20%20Ind%C3%BAstria%20T%C3%AAxtil.pdf> [acedido em 15 de Julho de 2015].

Associação Têxtil e Vestuário de Portugal. A INDÚSTRIA TÊXTEL E VESTUÁRIO PORTUGUESA. 2013. p. 1–25. Disponível em: http://formacao.aeportugal.pt/docs/aep-formacao documentos/ppii_apresenta%C3%A7%C3%A3o-jo%C3%A3o-costa.pdf?sfvrsn=2 [acedido em 15 de Julho de 2015].

Banco de Portugal. ANÁLISE SETORIAL DA INDÚSTRIA DOS TÊXTEIS E VESTUÁRIO. 2012. Disponível em: http://www.bportugal.pt/pt-PT/ServicosaoPublico/CentraldeBalancos/Biblioteca%20de%20Tumbnails/Estudos%20da%20CB%209_2012.pdf [acedido em 15 de Julho de 2015].

Barry L, Hainer MD. Dermatophyte Infections. *Am Fam Physician.* 2003; 67(1): 101–109

Atividade antimicrobiana em têxteis

Bartnicki-Garcia S. Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Annu Rev Microbiol.* 1968; 22:87–108.

Bezerra A., Bezerra RG, Filho IPL, Ferreira SS., Nascimento MMM, Pinheiro D, Medeiros, M.J.F. *O Fiar e o Tecer 120 Anos da Indústria Têxtil no Ceará.* Fortaleza: Sinditêxtil - FIEC; 2002.

Bharath K, Pasha M, Nizamuddin B. Characterization of natural fiber (sheep wool)-reinforced polymer-matrix composites at different operating conditions. *J Ind Text.* 2014; 0(00): 1–22.

Blyskal B. Fungi utilizing keratinous substrates. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2009; 63(6): 631–53.

Borkow G, Gabbay J. Biocidal textiles can help fight nosocomial infections. *Med Hypotheses.* 2008; 70(5): 990–4.

Boryo DE. The Effect of Microbes on Textile Material: A Review on the Way-Out So Far. *Int J Eng Sci.* 2013; 2: 9–13.

Braddock SE, O'Mahony M. *Techno Textiles: Revolutionary Fabrics for Fashion and Design.* 8th ed. London: Thames & Hudson Ltd; 1999.

Bruer SM, Poweel N, Smith G. Three-Dimensionally Knit Spacer Fabrics: A Review of Production Techniques and Applications. *JTATM.* 2005; 4(4).

Carvalho MJS. *Tramas que o Design Tece- Têxteis do novo milénio- têxteis técnicos e inteligentes.* [Dissertação] Porto: Faculdade de Engenharia do Porto; 2004.

Chang Y, McLandsborough L, McClements DJ. Physical Properties and Antimicrobial Efficacy of Thyme Oil Nanoemulsions: Influence of Ripening Inhibitors. *J Agric Food Chem.* 2012; 60(48): 12056–63.

Chen BK, Friedlander SF. Tinea capitis update: a continuing conflict with an old adversary. *Curr Opin Pediatr.* 2001; 13(4): 331–5.

Chizzola R, Benthe H, Franz C. Antioxidative Properties of *Thymus vulgaris* Leaves: Comparison of Different Extracts and Essential Oil Chemotypes. *J Agric Food Chem.* 2008; 56(16): 6897–904.

Clinical and Laboratory Standards Institute. M27-A2: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard-Second Edition. 2002.

Clinical and Laboratory Standards Institute. M38-A2: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi: approved standard. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.

Clinical and Laboratory Standards Institute. M07-A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 2012.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Coad BR, Kidd SE, Ellis DH, Griesser HJ. Biomaterials surfaces capable of resisting fungal attachment and biofilm formation. *Biotechnol Adv.* 2014; 32(2): 296–307.

Cogen AL, Nizet V, Gallo RL. Skin microbiota: a source of disease or defence?. *Br J Dermatol.* 2008; 158(3): 442–55.

Cristani M, D'Arrigo M, Mandalari G, Castelli F, Sarpietro MG, Micieli D, Venuti V, Bisignano G, Saija A, Trombetta D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *J Agric Food Chem.* 2007; 55(15): 6300–8.

Dias MFRG, Santos MVPQ, Bernardes FF, Amorim AGF, Schechtman RC, Azulay DR. Update on therapy for superficial mycoses: review article part I. *An Bras Dermatol.* 2013; 88(5): 764–74.

Dring I. Anti-microbial, Rotproofing and Hygiene Finishes. *Text Finish.* Derek Heywood. Society of Dyers and Colourists; 2003. p. 351–71.

Durán N, Marcato PD, Souza GIH, Alves OL, Esposito E. Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Produced by Fungal Process on Textile Fabrics and Their Effluent Treatment. *J Biomed Nanotechnol.* 2007; 3(2): 203–8.

El-Rafie MH, Mohamed AA, Shaheen TI, Hebeish A. Antimicrobial effect of silver nanoparticles produced by fungal process on cotton fabrics. *Carbohydr Polym.* 2005;80(3):779–82.

Elsner P. Antimicrobials and the skin physiological and pathological flora. *Curr Probl Dermatol.* 2006; 33: 35–41.

Esteves DF. Aperfeiçoamento das técnicas de avaliação da actividade antimicrobiana em produtos têxteis. [Dissertação] Covilhã: Universidade da Beira Interior; 2009.

Falkiewicz-Dulik M, Janda K, Wypych G. Handbook of biodegradation, biodetrioration, and biostabilization. 1th ed. Toronto: Chemtec Publ; 2010.

Fletcher K. Sustainable Fashion and Textiles: Design Journeys. 1th ed. London: Routledge; 2008.

Gao Y, Cranston R. Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles. *Text Res J.* 2008; 78(1): 60–72.

Giri VRD, Venugopal J, Sudha S, Deepika G, Ramakrishna S. Dyeing and antimicrobial characteristics of chitosan treated wool fabrics with henna dye. *Carbohydr Polym.* 2009; 75(4): 646–50.

Gomes H. A prevenção da Infecção Hospitalar a partir do Ambiente Físico. *TecnoHospital.* 2004; 40–2.

Gomes PG, Santos F, Carvalho M, Blattmann S. Módulo 1: Tecnologia de confecção - Nível Básico. Centro tecnológico das Indústrias Têxtil e do Vestuário de Portugal. 2005.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Ghosh SK. *Functional Coatings: By Polymer Microencapsulation*. John Wiley & Sons; 2006.

Gouveia IC. Nanobiotechnology: A new strategy to develop non-toxic antimicrobial textiles. *Curr Res Technol Educ Top Appl Microbiol Microb Biotechnol*. A. Méndez-Vilas; 2010. p. 407–14.

Gurjar MS, Ali S, Abdur M, Singh KS. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agric Sci*. 2012; 03(03): 425–33.

Gustafson TL, Kobylik B, Hutcheson RH, Schaffner W. Protective effect of anticholinergic drugs and psyllium in a nosocomial outbreak of Norwalk gastroenteritis. *J Hosp Infect*. 1983; 4(4): 367–74.

Gutarowska B, Michalski A. Microbial Degradation of Woven Fabrics and Protection Against Biodegradation. *Woven Fabrics*. INTECH Open Access Publisher; 2012. p. 267–96.

Hammer TR, Mucha H, Hoefler D. Dermatophyte susceptibility varies towards antimicrobial textiles: Dermatophyte susceptibility towards textiles. *Mycoses*. 2012; 55(4): 344–51.

Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008; 51: 2–15.

Heine E, Knops HG, Schaefer K, Vangeyte P, Moeller M. *Antimicrobial Functionalisation of Textile Materials. Em: Multifunctional Barriers for Flexible Structure*. Berlin: Springer; 2007.

He J, Tang Y, Wang SY. Differences in Morphological Characteristics of Bamboo Fibres and other Natural Cellulose Fibres: Studies on X-ray Diffraction, Solid State ¹³C-CP/MAS NMR, and Second Derivative FTIR Spectroscopy Data. *Iran Polym J*. 2007; 12(16): 807–18.

Horrocks AR. *Handbook of technical textiles*. Textile Institute, editor. Cambridge: Woodhead Pub; 2000.

Irzmańska E, Brochocka A, Majchrzycka K. Textile Composite Materials with Bioactive Melt-Blown Nonwovens for Protective Footwear. *Fibres Text East Eur*. 2012; 6A(95): 119–25.

Islam S, Shahid M, Mohammad F. Perspectives for natural product based agents derived from industrial plants in textile applications – a review. *J Clean Prod*. 2013; 57: 2–18.

International Organization for Standardization. ISO 20645:2004- Textile fabrics -- Determination of antibacterial activity -- Agar diffusion plate test. 2004. p. 1–9.

Atividade antimicrobiana em têxteis

International Organization for Standardization. ISO 20743 Textiles — Determination of antibacterial activity of antibacterial finished products. 2007. p. 1–27.

Jesus SAR. Novas bases têxteis para novas exigências sociais a sustentabilidade das fibras sintéticas. [Dissertação] Lisboa: Faculdade de Arquitectura da Universidade Técnica de Lisboa; 2011.

Joshi M, Ali SW, Purwar R, Rajendran S. Ecofriendly antimicrobial finishing of textiles using bioactive agents based on natural products. *Indian J Fibre Text Res.* 2009; 34(3): 295–304.

Jung WK, Kim SH, Koo HC, Shin S, Kim JM, Park YK, Hwang SY, Yang H, Park YH. Antifungal activity of the silver ion against contaminated fabric. *Mycoses.* 2007; 50(4): 265–9.

Kalia S, Thakur K, Celli A, Kiechel MA, Schauer CL. Surface modification of plant fibers using environment friendly methods for their application in polymer composites, textile industry and antimicrobial activities: A review. *J Environ Chem Eng.* 2013; 1(3): 97–112.

Kwakye-Awuah B, Williams C, Kenward MA, Radecka I. Antimicrobial action and efficiency of silver-loaded zeolite X. *J Appl Microbiol.* 2008; 104(5): 1516–24.

Lackner M, Guggenbichler JP. Antimicrobial Surfaces. Em: *Ullmanns Encycl Ind Chem.* Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2013

Lipke P., Oval R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *J Bacteriol.* 1998; 180(15): 3735–40.

Lucas N, Bienaime C, Belloy C, Queneudec M, Silvestre F, Nava-Saucedo JE. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review. *Chemosphere.* 2008; 73(4): 429–42.

Mangat MMA. Structure and Properties of Cotton Fiber: A Literature Review. 2009;

Mao J, Lawrence M. Durable Freshness for Textiles. *AATCC Rev.* 2001; 1: 28–30.

Mariscal A, Lopez-Gigosos RM, Carnero-Varo M, J. Fernandez-Crehuet. Antimicrobial effect of medical textiles containing bioactive fibres. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2011; 30(2): 227–32.

Matos J. Desenvolvimento de materiais têxteis com propriedades antimicrobianas para revestimento de calçado. [Dissertação] Minho: Universidade do Minho Escola de Engenharia; 2014.

McCann J, Hurford R, Martin A. A Design Process for the Development of Innovative Smart Clothing that Addresses End-User Needs from Technical, Functional, Aesthetic and Cultural View Points. *IEEE;* 2005. p. 70–7.

McIntyre JE. Synthetic fibres: nylon, polyester, acrylic, polyolefin. Cambridge: CRC Press ; Woodhead Pub; 2005.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Mollarafie P, Khadiv PP, Zarghami R, Amini FM, Ghafarzadegan R. Antibacterial and Wound Healing Properties of Thymol (*Thymus vulgaris* Oil) and its Application in a Novel Wound Dressing. *J Med Plants*. 2015; 14(53): 69–81.

Mondello F, Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis*. 2006; 6(1): 1–8.

Montgomery B. The benefit of textile design research to the textile designer. *Duck J Res Text Text Des*. 2010; 1.

Morgan DJ, Rogawski E, Thom KA, Johnson JK, Perencevich EN, Shardell M, Leekha S, Harris AD. Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' gloves and gowns after patient contact increases with environmental contamination: *Crit Care Med*. 2012; 40(4): 1045–51.

Muñoz-Bonilla A, Fernández-García M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Prog Polym Sci*. 2012; 37(2): 281–339.

Munoz-Price LS, Arheart KL, Mills JP, Cleary T, DePascale D, Jimenez A, Fajardo-Aquino Y, Coro G, Birnbach DJ, Lubarsky DA. Associations between bacterial contamination of health care workers' hands and contamination of white coats and scrubs. *Am J Infect Control*. 2012; 40(9): 245–8.

Murray P, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica*. Brasil: Elsevier; 2010.

Muruges Babu K, Ravindra KB. Bioactive antimicrobial agents for finishing of textiles for health care products. *J Text Inst*. 2015; 106(7): 706–17.

Neely AN, Maley M. Survival of Enterococci and Staphylococci on Hospital Fabrics and Plastic. *J Clin Microbiol*. 2000; 38(2): 724–6.

Neely AN, Orloff MM. Survival of Some Medically Important Fungi on Hospital Fabrics and Plastics. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(9): 3360–1.

Noskin GA, Bednarz P, Suriano T, Reiner S, Peterson LR. Persistent contamination of fabric-covered furniture by vancomycin-resistant enterococci: implications for upholstery selection in hospitals. *Am J Infect Control*. 2000; 28(4): 311–3.

OECD Environment, Health and Safety Publications. ANALYSIS AND ASSESSMENT OF CURRENT PROTOCOLS TO DEVELOP HARMONISED TEST METHODS AND RELEVANT PERFORMANCE STANDARDS FOR THE EFFICACY TESTING OF TREATED ARTICLES / TREATED MATERIAL. 2007.

Ohl M, Schweizer M, Graham M, Heilmann K, Boyken L, Diekema D. Hospital privacy curtains are frequently and rapidly contaminated with potentially pathogenic bacteria. *Am J Infect Control*. 2012; 40(10): 904–6.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). World apparel fiber consumption survey. Washington, DC: Intl cotton Advisory Committee/FAO; 2013.

Osawa K, Baba C, Ishimoto T, Chida T, Okamura N, Miyake S, Yoshizawa Y. Significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) survey in a university teaching hospital. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother*. 2003; 9(2): 172–7.

Panáček A, Kvítek L, Pucek R, Kolář M, Večeřová R, Pizúrová N, Sharma VK, Nevěčná T, Zbořil R. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J Phys Chem B*. 2006; 110(33): 16248–53.

Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP, Banerjee S, Henderson TS, Tolson JS, Martone WJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1992;13(10): 582–6.

Pannu S. Investigation of Natural Variants for Antimicrobial Finishes in Innerwear A Review Paper for Promotion of Natural Hygiene in Innerwear. *Int J Eng Trends Technol*. 2013; 4(5): 2168–71.

Papaspyrides CD, Pavlidou S, Vouyiouka SN. Development of advanced textile materials: natural fibre composites, anti-microbial, and flame-retardant fabrics. *J Mater Des Appl*. 2009; 223(2): 91–102.

Patel BH, Desai KU. Corporate uniform fabrics with antimicrobial edge; preparation and evaluation methodology. *Int Dyer*. 2014; 33–8.

Peng W, Tan J, Din S. State and Trends of Test Technology on Hygienic Properties for Leather Shoes. *Adv Mater Res*. 2011; 382: 375–8.

Perera S, Bhushan B, Bandara R, Rajapakse G, Rajapakse S, Bandara C. Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp*. 2013;436:975–89.

Perry C, Marshall R, Jones E. Bacterial contamination of uniforms. *J Hosp Infect*. 2001;48(3):238–41.

Pommerville JC. *Fundamentals of Microbiology*. 10th ed. Jones & Bartlett Learning; 2011.

Puwar R, Joshi M. Recent Developments in Antimicrobial Finishing of Textiles - A Review. *Acad J*. 2004;4(3):22–6.

Pyrek KM. Soft-Surface Contamination in the Patient-Care Environment and Antimicrobial Textiles. *Infect Control Today*.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Rajendran R, Balakumar C, Kalaivani J, Sivakumar R. Dyeability and Antimicrobial Properties of Cotton Fabrics Finished with Punica Granatum Extracts. *J Text Appar Technol Manag.* 2001;7:1–12.

Ramachandran T, Rajendrakumar K, Rajendran R. Antimicrobial textiles- Overview. *J Inst Eng.* 2004;84(2):42–7.

Ravindra S, Murali Mohan Y, Narayana Reddy N, Mohana Raju K. Fabrication of antibacterial cotton fibres loaded with silver nanoparticles via «Green Approach». *Colloids Surf Physicochem Eng Asp.* Setembro de 2010;367(1-3):31–40.

Ren X, Kocer HB, Kou L, Worley SD, Broughton RM, Tzou YM, Huang TS. Antimicrobial polyester. *J Appl Polym Sci.* 2008;109(5):2756–61.

Retail Forum to sustainability. Sustainability of textiles. *Retail Forum Sustain* 2013;11. Disponível em: http://ec.europa.eu/environment/industry/retail/pdf/issue_paper_textiles.pdf [acedido em 16 de Julho de 2015].

Ribeiro J da S. História do calçado : da Antiguidade caminhando até ao presente. 1.^a ed. Laborpress; 2010.

Ristić T, Zemljič LF, Novak M, Kunčič MK, Sonjac S, Cimerman NG, Strnad S. Antimicrobial efficiency of functionalized cellulose fibres as potential medical textiles. *Sci Microb Pathog Commun Curr Res Technol Adv.* A. Méndez-Vilas; 2011. p. 36–51.

Roda JT. Garantia de Qualidade em Materiais Têxteis. [Dissertação] Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa Engenharia de Materiais; 2008.

Rodriguez C, Di Cara A, Renaud FNR, Freney J, Horvais N, Borel R, Puzenat E, Guillard C. Antibacterial effects of photocatalytic textiles for footwear application. *Catal Today.* 2014;230:41–6.

Romanò CL, Romanò D, De Vecchi E, Logoluso N, Drago L. Antibacterial finishing reduces hospital textiles contamination. An experimental study. *Eur Orthop Traumatol.* Setembro de 2012;3(3):177–82.

Rudolf Chemie. RUCO-BAC AGP. 2013.

Sajomsang W, Gonil P, Saesoo S, Ovatlarnporn C. Antifungal property of quaternized chitosan and its derivatives. *Int J Biol Macromol.* Janeiro de 2012;50(1):263–9.

Sánchez IJC. Têxteis inteligentes. *Quím Têxt.* 2006;(82):58–77.

Sánchez-Navarro MM, Pérez-Limiñana MA, Cuesta-Garrote N, Maestre-López MI, Bertazzo M, Martínez-Sánchez MA, Orgilés-Barceló C, Arán-Aís F. Latest Developments in Antimicrobial Functional Materials for Footwear. *Microb Pathog Strateg Combat Them Sci Technol Educ.* A. Méndez-Vilas. 2013. p. 102–13.

Santos IM, Venâncio A, Lima N. Fungos contaminantes na indústria alimentar. 1.^a ed. Braga: Micoteca da Universidade do Minho; 1998.

Atividade antimicrobiana em têxteis

- Schindler WD, Hauser PJ. Chemical Finishing of Textiles. CRC; 2004.
- Sedlarik V. Antimicrobial Modifications of Polymers. Em: Biodegradation - Life of Science. InTech; 2013
- Seebacher C, Bouchara J-P, Mignon B. Updates on the Epidemiology of Dermatophyte Infections. Mycopathologia. Novembro de 2008;166(5-6):335–52.
- Shahidi S, Aslan N, Ghoranneviss M, Korachi M. Effect of thymol on the antibacterial efficiency of plasma-treated cotton fabric. Cellulose. 2014;21(3):1933–43.
- Shahidi S, Wiener J. Antibacterial Agents in Textile Industry. Em: Antimicrobial Agents. Bobbarala :InTech; 2012. p. 387–406.
- Simoncic B, Tomsic B. Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles - A Review. Text Res J. 2010;80(16):1721–37.
- Stefanović O, Radojević I, Vasić S, Čomić L. Antibacterial Activity of Naturally Occurring Compounds from Selected Plants. Antimicrob Agents. 2012. p. 1–24.
- Sun G, Worley SD. Chemistry of Durable and Regenerable Biocidal Textiles. J Chem Educ. 2005;82(1):60.
- Szostak-Kotowa J. Biodeterioration of textiles. Int Biodeterior Biodegrad. 2004;53(3):165–70.
- Teufel L, Pipal A, Schuster KC, Staudinger T, Redl B. Material-dependent growth of human skin bacteria on textiles investigated using challenge tests and DNA genotyping. J Appl Microbiol. 2010;108(2):450–61.
- Textiles Intelligence. Antimicrobial Fabrics Help Fight War Against Germs [Internet]. 2004. Obtido de: [http:// www.textilesintelligence.com/til/press.cfm?prid=325](http://www.textilesintelligence.com/til/press.cfm?prid=325)
- Timofeeva L, Kleshcheva N. Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2011;89(3):475–92.
- Troficolor Têxteis. Processos Têxteis. 2013.
- Uddin F. Environmental Concerns in Antimicrobial Finishing of Textiles. Int J Text Sci. 2014;(1A)(3):15–20.
- Valério SCP, Fernandes AM, Raposo D. O design de vestuário e têxtil. Convergências. 2013;(12).
- Vasanthakumari R. Textbook of microbiology. BI Publications Pvt Ltd: 2007.
- Vaz C., Goncalves AR, Pinto E, Oliveira S., Tavares C, Salgueiro L, et al. Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2004;18(1):73–8.
- Vieira, RMM. Estudo da Eficiência e Durabilidade de Diversos Métodos de Fixação de Produtos Antimicrobianos em Fibras Celulósicas. [Dissertação] Minho: Universidade do Minho Escola de Engenharia; 2006.

Atividade antimicrobiana em têxteis

Walentowska J, Flaczyk JF. Thyme essential oil for antimicrobial protection of natural textiles. *Int Biodeterior Biodegrad.* 2013;84:407–11.

Walter N, McQueen RH, Keelan M. In vivo assessment of antimicrobial-treated textiles on skin microflora. *Int J Cloth Sci Technol.* 2014;26(4):330–42.

Wilkie CA, Geuskens G, Lobo VMS. *Handbook of Research on Functional Materials: Principles, Capabilities and Limitations.* CRC Press; 2014.

Windler L, Height M, Nowack B. Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications. *Environ Int.* 2013;53:62–73.

Xi L, Qin D, Wang G. Resistance of Natural Bamboo Fiber to Microorganisms and Factors that May affect such resistance. *BioResources.* 2013;8(4):6501–9.

Ye W, Xin JH, Li P, Lee KD, Kwong T. Durable antibacterial finish on cotton fabric by using chitosan-based polymeric core-shell particles. *J Appl Polym Sci.* 2006;102(2):1787–93.

Yip J, Ng SP. Study of three-dimensional spacer fabrics: Physical and mechanical properties. *J Mater Process Technol.* 2008;206(1-3):359–64.

Yueping W, Ge W, Haitao C, Genlin T, Zheng L, Feng XQ, Xiangqi Z, Xiaojun H, Xushan G. Structures of Bamboo Fiber for Textiles. *Text Res J.* 2010;80(4):334–43.

Yusuf M, Ahmad A, Shahid M, Khan I, Khan SA, Manzoor N, Mohammad F. Assessment of colorimetric, antibacterial and antifungal properties of woollen yarn dyed with the extract of the leaves of henna (*Lawsonia inermis*). *J Clean Prod.* 2012;27:42–50.