

Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa

Antimicrobial activity of chitosan associated with essential oils in biomedical application: an integrative review

Actividad antimicrobiana del quitosano asociado a aceites esenciales en aplicación biomédica: una revisión integradora

Recebido: 16/10/2022 | Revisado: 26/10/2022 | Aceitado: 28/10/2022 | Publicado: 02/11/2022

Betina Brixner

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4640-994X>
Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil
E-mail: betinabrixner@yahoo.com.br

Chana de Medeiros da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2231-5121>
Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil
E-mail: csilva@unisc.br

Liliane Damaris Pollo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8084-227X>
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil
E-mail: liliane.pollo@ufrgs.br

Jane Dagmar Pollo Renner

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0649-7081>
Universidade de Santa Cruz do Sul, Brasil
E-mail: janerrenner@unisc.br

Resumo

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

Palavras-chave: Tecnologia biomédica; Quitosana; Óleo essencial; Produtos com ação antimicrobiana.

Abstract

Currently, the use of biomaterials in the health area is constantly evolving. It is known that the development of materials using chitosan, a biocompatible polymer with antimicrobial action, associated with essential oils, a natural substance with numerous biological and antimicrobial properties, has been studied. Therefore, we sought to verify the literature studies related to the antimicrobial activity of chitosan-based biomaterials associated with different essential oils, aimed at the health area. A literature review was carried out in the PubMed and Science Direct databases, from 2018 to 2022, using the descriptors "Chitosan" AND "Essential Oil" AND "Antimicrobial Activity" AND "Dressing". A total of 305 articles were found in the database search, of which eight articles were included in the study, in which it was possible to divide them according to the final product into: (1) film; (2) cryogel, and; (3) nanofibrous scaffolds. Antimicrobial analysis techniques included an agar diffusion test and minimal inhibitory/microbicide concentration. It was possible to verify that the chitosan-based biomaterials alone already showed inhibition of the microbial strains

tested and, when associated with essential oils, there was an increase in the action against the strains, making them promising for biomedical applicability.

Keywords: Biomedical technology; Chitosan; Essential oil; Products with antimicrobial action.

Resumen

Atualmente, el uso de biomateriales en el área de la salud está en constante evolución. Se sabe que se ha estudiado el desarrollo de materiales utilizando quitosano, un polímero biocompatible con acción antimicrobiana, asociado a aceites esenciales, sustancia natural con numerosas propiedades biológicas y antimicrobianas. Por lo tanto, buscamos verificar en la literatura estudios relacionados con la actividad antimicrobiana de biomateriales a base de quitosano asociados con diferentes aceites esenciales, dirigidos al área de la salud. Se realizó una revisión bibliográfica en las bases de datos PubMed y Science Direct, de 2018 a 2022, utilizando los descriptores “Chitosan” AND “Essential Oil” AND “Antimicrobial Activity” AND “Dressing”. En la búsqueda en la base de datos se encontraron un total de 305 artículos, de los cuales ocho artículos fueron incluidos en el estudio, en el que fue posible dividirlos según el producto final en: (1) película; (2) criogel y; (3) andamios nanofibrosos. Las técnicas de análisis antimicrobiano incluyeron la prueba de difusión en agar y la concentración mínima inhibitoria/microbicida. Fue posible verificar que los biomateriales a base de quitosano solos ya mostraron inhibición de las cepas microbianas probadas y, cuando se asociaron con aceites esenciales, hubo un aumento en la acción contra las cepas, haciéndolos prometedores para la aplicabilidad biomédica.

Palabras clave: Tecnología biomédica; Quitosano; Aceite esencial; Productos con acción antimicrobiana.

1. Introdução

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

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

Aliado aos benefícios da quitosana, a associação desse biopolímero aos óleos essenciais também é bastante promissor (Espíndola Sobczyk et al., 2021; Santos et al., 2019). Os óleos essenciais são misturas de compostos voláteis caracterizados por um forte aroma, extraídos de plantas e/ou especiarias (Amalraj et al., 2020; Orchard et al., 2017; Santos et al., 2019). Atualmente, o interesse por óleos essenciais para aplicação no mercado farmacêutico se deve aos seus inúmeros benefícios farmacológicos e os diversos compostos presentes nos mesmos, responsáveis pela sua ação antimicrobiana (Aljaafari et al., 2021; Orchard et al., 2017). Dos diversos modos de ação dos óleos essenciais, acredita-se que a maioria atue na membrana celular e na parede celular microbiana (El-Tarabily et al., 2021; Xu et al., 2016). Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão integrativa sobre os métodos utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana de biomateriais à base de quitosana associados a diferentes óleos essenciais, voltados para aplicações biomédicas.

2. Metodologia

Foi realizada uma pesquisa de revisão de literatura integrativa, a fim de discutir e ampliar os conhecimentos sobre os métodos utilizados para determinar a medida da atividade antimicrobiana de biomateriais à base de quitosana e óleos essenciais. Uma revisão de literatura integrativa visa realizar uma avaliação crítica de estudos através de um amplo levantamento metodológico, combinando os dados disponíveis na literatura, de origem experimental e não experimental, identificando, analisando e sintetizando os resultados voltados ao cuidado ao paciente (Sousa et al., 2018; Souza et al., 2010). A pesquisa seguiu as recomendações para uma revisão integrativa de literatura, através da análise de conteúdo, seguindo as seguintes etapas: (1) identificação do tema; (2) seleção dos critérios para inclusão e exclusão; (3) definição das informações a serem extraídas dos estudos selecionados; (4) avaliação do conteúdo dos estudos incluídos; (5) interpretação dos resultados e, (6) apresentação da síntese dos resultados (Sousa et al., 2018; Souza et al., 2010).

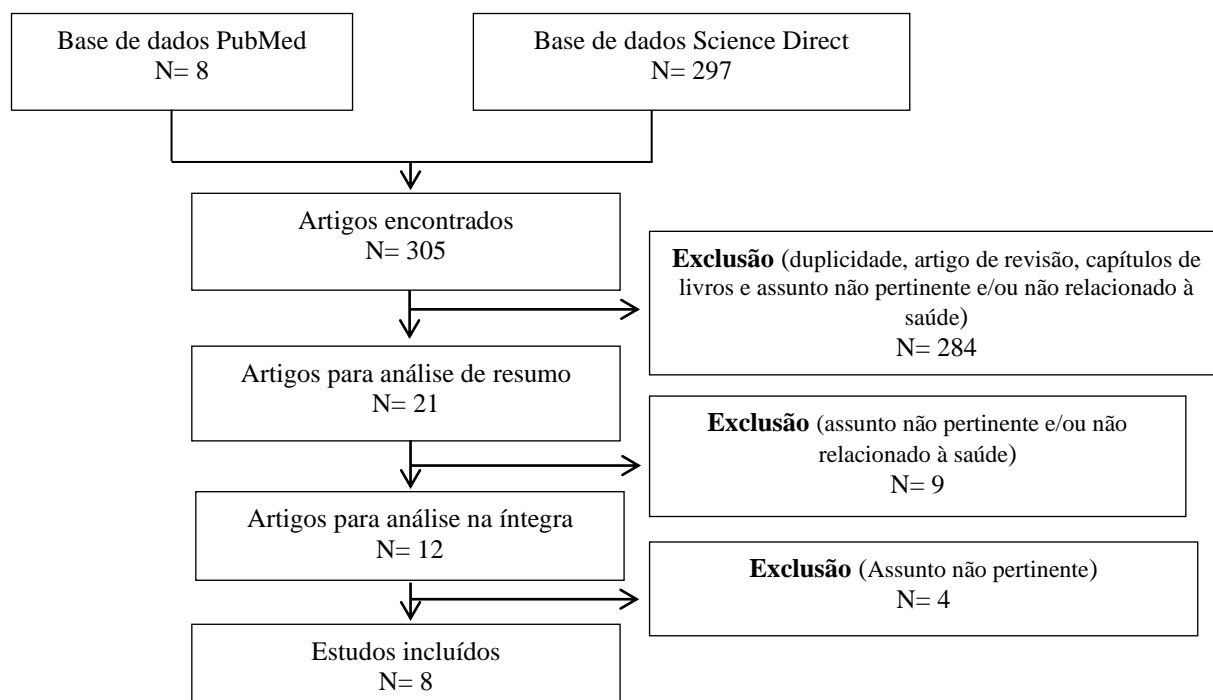
Os artigos foram identificados por meio de uma pesquisa na base de dados PubMed e Science Direct, realizada no mês de abril de 2022, utilizando os descritores "*Chitosan*" AND "*Essential Oil*" AND "*Antimicrobial Activity*" AND "*Dressing*". A busca foi realizada em artigos publicados a partir de 2018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

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

3. Resultados

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

Figura 1 - Fluxograma da seleção dos artigos.



Fonte: Autores.

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

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

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

	zona de inibição do microrganismo testado.	<p>- Quitosana + OE erva de São João 2,5% <i>E. hirae</i>: 0,0 mm; <i>B. cereus</i>: 0,0 mm; <i>S. aureus</i>: 7,0 mm; <i>L. pneumophila</i>: 8,0 mm; <i>P. aeruginosa</i>: 7,0 mm; <i>E. coli</i>: 8,0 mm; <i>C. albicans</i>: 7,0 mm</p> <p>- Quitosana + OE erva de São João 5% <i>E. hirae</i>: 7,0 mm; <i>B. cereus</i>: 7,0 mm; <i>S. aureus</i>: 8,0 mm; <i>L. pneumophila</i>: 9,0 mm; <i>P. aeruginosa</i>: 8,0 mm; <i>E. coli</i>: 9,0 mm; <i>C. albicans</i>: 8,0 mm</p> <p>- Quitosana + OE erva de São João 10% <i>E. hirae</i>: 9,0 mm; <i>B. cereus</i>: 8,0 mm; <i>S. aureus</i>: 10,0 mm; <i>L. pneumophila</i>: 11,0 mm; <i>P. aeruginosa</i>: 10,0 mm; <i>E. coli</i>: 12,0 mm; <i>C. albicans</i>: 10,0 mm</p> <p>- Quitosana + OE erva de São João 20% <i>E. hirae</i>: 10,0 mm; <i>B. cereus</i>: 10,0 mm; <i>S. aureus</i>: 11,0 mm; <i>L. pneumophila</i>: 13,0 mm; <i>P. aeruginosa</i>: 12,0 mm; <i>E. coli</i>: 14,0 mm; <i>C. albicans</i>: 10,0 mm</p>	OE de erva de São João demonstraram que possuem excelentes efeitos antimicrobianos contra <i>E. coli</i> e <i>L. pneumophila</i> . No geral, os resultados demonstraram que os criogéis de quitosana incorporados com OE de erva de São João são promissores como curativos para a cicatrização de feridas.
SCAFFOLDS NANOFIBROSOS			
Barzegar et al. (2021)	CIM e CMM, em que foram contadas as colônias viáveis.	<p>- Quitosana/PVA+ OE <i>Satureja mutica</i> CIM = <i>S. aureus</i>: 4 µL/mL; <i>E. coli</i>: 2 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 4 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 1 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i>: 0,0625 µL/mL CMM = <i>S. aureus</i>: 4 µL/mL; <i>E. coli</i>: 2 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 16 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 2 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i>: 0,0625 µL/mL</p> <p>- Quitosana/PVA+ OE <i>Oliveria decumbes</i> CIM = <i>S. aureus</i>: 4 µL/mL; <i>E. coli</i>: 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 8 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 2 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i>: 0,125 µL/mL CMM = <i>S. aureus</i>: 8 µL/mL; <i>E. coli</i>: 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 32 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 4 µL/mL e <i>C. dubliniensis</i>: 1 µL/mL</p>	Através da concentração microbicida mínima foi possível verificar o aumento da atividade antimicrobiana dos <i>scaffolds</i> contra todos os microrganismos testados, podendo ser potencialmente utilizados como curativos para feridas.
Râpã et al. (2021)	Método de difusão em ágar. Discos de papel esterilizado (6 mm) foram colocados nas placas e uma alíquota (50 µL) das amostras foi adicionada. Teste realizado em triplicata, em que a atividade antimicrobiana foi avaliada através das medidas das zonas de inibição do microrganismo testado, após em 24 h e 48 h de incubação.	<p>- Quitosana/Colágeno (TB) <i>S. aureus</i>: 12,94 ± 0,31 mm; <i>E. coli</i>: 17,21 ± 0,04 mm; <i>E. faecalis</i>: 0,0 mm; <i>S. typhimurium</i>: 17,47 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 18,29 ± 0,28 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,34 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 23,64 ± 0,27 mm</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TB) + OE de Endro <i>S. aureus</i>: 11,19 ± 0,18 mm; <i>E. coli</i>: 19,09 ± 0,31 mm; <i>E. faecalis</i>: 16,12 ± 0,08 mm; <i>S. typhimurium</i>: 15,33 ± 0,35 mm; <i>C. albicans</i>: 15,69 ± 0,07 mm; <i>C. glabrata</i>: 26,53 ± 0,24 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 16,72 ± 0,47 mm</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TB) + OE de Erva-cidreira <i>S. aureus</i>: 17,39 ± 0,21 mm; <i>E. coli</i>: 25,09 ± 0,11 mm; <i>E. faecalis</i>: 26,70 ± 0,12 mm; <i>S. typhimurium</i>: 18,87 ± 0,54 mm; <i>C. albicans</i>: 17,41 ± 0,31 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,54 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 15,62 ± 0,32 mm</p>	As nanofibras à base de colágeno bovino hidrolisado com quitosana são eficientes contra <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>A. brasiliensis</i> . A eficiência da atividade antimicrobiana aumentou para nanofibras de colágeno bovino hidrolisado e quitosana carregadas com OE contra <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>C. albicans</i> e <i>C. glabrata</i> . As nanofibras à base de colágeno hidrolisado de pele de coelho e quitosana foram muito eficientes contra todas as cepas testadas, exceto para <i>E. coli</i> . A eficiência antimicrobiana aumentou para o hidrolisado de colágeno de coelho e

		<p>- Quitosana/Colágeno (TB) + OE de Endro + OE de Erva-cidreira <i>S. aureus</i>: 26,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 22,79 ± 0,41 mm; <i>E. faecalis</i>: 25,28 ± 0,51 mm; <i>S. typhimurium</i>: 13,19 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 19,61 ± 0,23 mm; <i>C. glabrata</i>: 30,35 ± 0,33 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 14,68 ± 0,22 mm</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TC) <i>S. aureus</i>: 20,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 0,0 mm; <i>E. faecalis</i>: 28,56 ± 0,23 mm; <i>S. typhimurium</i>: 29,88 ± 0,27 mm; <i>C. albicans</i>: 19,05 ± 0,17 mm; <i>C. glabrata</i>: 16,03 ± 0,47 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 20,03 ± 0,08 mm</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TC) + OE de Endro <i>S. aureus</i>: 11,19 ± 0,18 mm; <i>E. coli</i>: 19,09 ± 0,31 mm; <i>E. faecalis</i>: 16,12 ± 0,08 mm; <i>S. typhimurium</i>: 15,33 ± 0,35 mm; <i>C. albicans</i>: 15,69 ± 0,07 mm; <i>C. glabrata</i>: 26,53 ± 0,24 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 16,72 ± 0,47 mm</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TC) + OE de Erva-cidreira <i>S. aureus</i>: 17,39 ± 0,21 mm; <i>E. coli</i>: 25,09 ± 0,11 mm; <i>E. faecalis</i>: 26,70 ± 0,12 mm; <i>S. typhimurium</i>: 18,87 ± 0,54 mm; <i>C. albicans</i>: 17,41 ± 0,31 mm; <i>C. glabrata</i>: 22,50 ± 0,54 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 15,62 ± 0,32 mm.</p> <p>- Quitosana/Colágeno (TC) + OE de Endro + OE de Erva-cidreira <i>S. aureus</i>: 26,43 ± 0,05 mm; <i>E. coli</i>: 22,79 ± 0,41 mm; <i>E. faecalis</i>: 25,28 ± 0,51 mm; <i>S. typhimurium</i>: 13,19 ± 0,11 mm; <i>C. albicans</i>: 19,61 ± 0,23 mm; <i>C. glabrata</i>: 30,35 ± 0,33 mm; <i>A. brasiliensis</i>: 14,68 ± 0,22 mm</p>	<p>quitosana carregado com OE para o <i>S. aureus</i>.</p>
Lamarra et al. (2020)	Método de difusão em ágar utilizando discos dos <i>scaffolds</i> (1,5 cm de diâmetro). A atividade antimicrobiana foi avaliada através da medida da zona de inibição do microrganismo testado após 24 e 48 h.	<p>Quitosana/PVA + OE Cabreúva <i>C. albicans</i>: 1,9 ± 0,07 cm; <i>E. coli</i>: 1,6 ± 0,06 cm; <i>S. aureus</i>: 2,1 ± 0,09 cm; <i>S. epidermidis</i>: 1,8 ± 0,10 cm</p>	<p>As nanofibras à base de PVA e quitosana foram um veículo para a liberação controlada do OE de Cabreúva. Observou-se maior atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram positivas, quando comparadas aos outros microrganismos, apresentando potencial para ser aplicado na área biomédica.</p>
Ardekani et al. (2018)	CIM e CMM, em que foram contadas as colônias viáveis.	<p>Quitosana/PVA/gelatina + OE <i>Zataria multiflora</i> CIM = <i>S. aureus</i>: 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 2 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 0,062 µL/mL CMM = <i>S. aureus</i>: 4 µL/mL; <i>P. aeruginosa</i>: 2 µL/mL; <i>C. albicans</i>: 0,5 µL/mL</p>	<p>As nanofibras associadas com óleo essencial de <i>Z. multiflora</i> inibiu completamente o crescimento de <i>S. aureus</i>, <i>P. aeruginosa</i> e <i>C. albicans</i> após 24 h de incubação. Materiais se mostram promissores para serem empregadas em curativos, em cirurgias e queimaduras.</p>

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

4. Discussão

Frente à preocupação que se enfrenta para o tratamento de doenças infecciosas e com a resistência antimicrobiana, o interesse em desenvolver novos biomateriais antimicrobianos que sejam eficazes, vem aumentando (Rodríguez-Vázquez et al., 2019; Confederat et al., 2021; Madni et al., 2021; Sultankulov et al., 2019). A quitosana é um dos polímeros naturais que vem sendo amplamente utilizado na produção de novos biomateriais (De Masi et al., 2019; Confederat et al., 2021; Madni et al., 2021; Matica et al., 2019; Santos et al., 2019). Dentre as propriedades que a quitosana possui, citam-se: biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade, não antigenicidade e suas diversas propriedades biológicas, tais como a atividade antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, antiinflamatória, antidiabética, imunoestimulante (Madni et al., 2021; Shariatnia, 2019; Sultankulov et al., 2019).

Através da análise dos resultados dos artigos selecionados, foi possível verificar que os biomateriais contendo quitosana, sem a adição de óleos essenciais, já apresentaram potencial antimicrobiano frente a algumas cepas microbianas (Amalraj et al., 2020; Espíndola Sobczyk et al., 2021; Râpă et al., 2021; Santos et al., 2019). Sabe-se que existem inúmeros fatores que influenciam a atividade antimicrobiana da quitosana e, dentre os principais, citam-se a massa molar, o grau de desacetilação e o pH do meio (Matica et al., 2019; Riaz Rajoka et al., 2020).

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

Em contrapartida, no estudo de Bölgen et al. (2020), quando testado o criogel contendo somente a quitosana pura, este não apresentou atividade antimicrobiana frente às cepas de bactérias Gram positivas, Gram negativas e levedura. Na formulação desse biomaterial, foi utilizada quitosana de baixa massa molar, solubilizada em ácido acético, porém os autores não apresentaram a informação do grau de desacetilação da quitosana utilizada. A ausência da atividade antimicrobiana da quitosana também foi relatada em outros estudos (Foster & Butt, 2010; Inta et al. 2014), os quais verificaram que a quitosana, na forma de filmes secos, são incapazes de interagir com as células bacterianas, uma vez que, para protonar os grupos amino da quitosana e assim torná-los ativos para a interação com a parede celular dos microrganismos, o meio precisa estar fluido.

Em relação aos óleos essenciais, seu uso associado ao polímero de quitosana já vem sendo amplamente estudado (El-Tarabily et al., 2021; Hadidi et al., 2020; Râpă et al., 2021; Santos et al., 2019), demonstrando preferência na utilização de materiais vegetais naturais considerados biocompatíveis e biodegradáveis (Indurkar et al., 2021). As inúmeras propriedades

farmacológicas que os óleos essenciais possuem os promovem para ser amplamente utilizados na medicina regenerativa, uma vez que são capazes de acelerar o processo de cicatrização de feridas, reduzir os processos infecciosos e inflamatórios, além de apresentar potencial anticancerígeno, antidiabético, antioxidante e cardiovascular (Jugreet et al., 2020). Ainda, os óleos essenciais colaboram com o processo de mistura aos biopolímeros durante a fabricação de *scaffolds*, podendo substituir componentes sintéticos fundamentais no processo de desenvolvimento de biomateriais, como o PVA (álcool polivinílico), o qual é utilizado como agente plastificante (Liu et al., 2019; Ren et al., 2022).

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

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

Em relação aos testes escolhidos pelos autores para a realização da atividade antimicrobiana, foi possível verificar a predominância do teste de difusão em ágar, método muito utilizado nos laboratórios de microbiologia clínica para averiguar a susceptibilidade antimicrobiana (Abdollahzadeh et al., 2021; Balouiri et al., 2016). Essa análise pode ser realizada por difusão em disco ou em poço, ambas empregadas para avaliar as propriedades antimicrobianas dos biopolímeros, bem como de agentes naturais ativos incorporados em soluções filmogênicas de quitosana (Abdollahzadeh et al., 2021; Amalraj et al., 2020; Espíndola Sobczyk et al., 2021; Santos et al., 2019). Através da realização desta técnica, com a inoculação de microrganismos na superfície do ágar e a colocação das amostras (filmes, soluções filmogênicas e outros), as placas são incubadas por 24-48 horas em temperatura ideal para cada microrganismo, cujo resultado ocorre através da leitura do diâmetro do halo de inibição ao redor da amostra (perímetro livre de colônias) e através da verificação visual de crescimento bacteriano abaixo do disco (área de contato direto da amostra com a superfície do ágar) (Abdollahzadeh et al., 2021; Rojas-Graü et al., 2007). Sendo assim, as zonas de inibição, seja ao redor ou abaixo da amostra (filme), são consideradas positivas/válidas para o resultado de atividade antimicrobiana (Jridi et al., 2014).

Outra técnica utilizada foi a concentração inibitória mínima, método de diluição que possibilita estimar a concentração do microrganismo testado, seja por diluição em ágar ou meio em caldo, através de macro ou microdiluição (Balouiri et al., 2016). A concentração inibitória mínima é a concentração mais baixa de agente antimicrobiano que inibe

completamente o crescimento dos microrganismos, nos tubos ou poços de microdiluição, detectados a olho nu (Benkova et al., 2020). Além disso, também é possível inferir a concentração bactericida mínima ou concentração fungicida mínima, também conhecida como concentração letal mínima, que é uma estimativa da atividade bactericida ou fungicida, definida pela menor concentração de agente antimicrobiano necessário para matar 99,9 % do inóculo final após 24 horas de incubação (Balouiri et al., 2016).

Conforme apresentado, os testes de susceptibilidade antimicrobiana mais utilizado pelos autores foi o método de difusão em ágar, preferencialmente escolhido por se tratar de uma técnica padronizada, simples e de baixo custo (Abdollahzadeh et al., 2021; Balouiri et al., 2016). Apesar disso, esse método apresenta uma limitação na interpretação do resultado para filmes que possuem certa coloração, podendo interferir na nitidez na medida da zona de inibição (Abdollahzadeh et al., 2021).

5. Conclusão

Diante do exposto, conclui-se que a quitosana é um biopolímero promissor na produção de biomateriais com propriedades biomédicas, a qual apresenta atividade antimicrobiana intrínseca. Além disso, visando um aumento para a ação antimicrobiana, a associação de óleos essenciais à quitosana é considerada relevante, uma vez que possuem inúmeras propriedades farmacológicas, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis. Em relação aos métodos utilizados para a análise antimicrobiana, a técnica mais utilizada nos estudos foi a de difusão em ágar, a qual é rotineiramente utilizada nos ensaios microbiológicos em laboratórios clínicos. Estudos futuros devem ser realizados, visando identificar as dificuldades e melhorias das técnicas para a verificação da atividade antimicrobiana dos biomateriais à base de quitosana associado a óleos essenciais, bem como testes de citotoxicidade e biodegradabilidade dos mesmos.

Agradecimentos

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

Referências

- Abdollahzadeh, E., Nematollahi, A., & Hosseini, H. (2021). Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 291-303. doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.084
- Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240-254. doi: 10.1016/j.micres.2013.10.003
- Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K. S., & Lim, S. H. E. (2021). An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. *Molecules*, 26(3), 628. doi: 10.3390/molecules26030628
- Amalraj, A., Haponiuk, J. T., Thomas, S., & Gopi, S. (2020). Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 366-375. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.176
- Ardekani, N. T., Khorram, M., Zomorodian, K., Yazdanpanah, S., Veisi, H., & Veisi, H. (2019). Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with *Zataria multiflora* essential oil as potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 743-750. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.085
- Bakshi, P. S., Selvakumar, D., Kadirvelu, K., & Kumar, N. S. (2020). Chitosan as an environment friendly biomaterial—a review on recent modifications and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 1072-1083. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.113
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005
- Barzegar, S., Zare, M. R., Shojaei, F., Zareshahabadi, Z., Koohi-Hosseiniabadi, O., Saharkhiz, M. J., Iraj, A., Zomorodian, K., & Khorram, M. (2021). Core-shell chitosan/PVA-based nanofibrous scaffolds loaded with *Satureja mutica* or *Oliveria decumbens* essential oils as enhanced antimicrobial wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 597, 120288. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120288

- Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806-822. doi: 10.1111/jam.14704
- Bölgen, N., Demir, D., Yalçın, M. S., & Özdemir, S. (2020). Development of *Hypericum perforatum* oil incorporated antimicrobial and antioxidant chitosan cryogel as a wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1581-1590. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.056
- Confederat, L. G., Tuchilus, C. G., Dragan, M., Sha'at, M., & Dragostin, O. M. (2021). Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. *Molecules*, 26(12), 3694. doi:10.3390/molecules26123694
- De Masi, A., Tonazzini, I., Masciullo, C., Mezzena, R., Chiellini, F., Puppi, D., & Cecchini, M. (2019). Chitosan films for regenerative medicine: fabrication methods and mechanical characterization of nanostructured chitosan films. *Biophysical Reviews*, 11(5), 807-815. doi:10.1007/s12551-019-00591-6
- El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Elwan, H. A. M., Elnesr, S. S., & Abd El-Hack, M. E. (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5145-5156. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.05.033
- Espíndola Sobczyk, A., Luchese, C. L., Faccin, D. J. L., & Tessaro, I. C. (2021). Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 51-59. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.084
- Foster, L. J. R., & Butt, J. (2011). Chitosan films are NOT antimicrobial. *Biotechnology Letters*, 33(2), 417-421. doi:10.1007/s10529-010-0435-1
- Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S., & Jafari, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*, 236, 116075. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116075
- Indurkar, A., Pandit, A., Jain, R., & Dandekar, P. (2021). Plant-based biomaterials in tissue engineering. *Bioprinting*, 21, e00127. doi: 10.1016/j.bprint.2020.e00127
- Inta, O., Yoksan, R., & Limtrakul, J. (2014). Hydrophobically modified chitosan: a bio-based material for antimicrobial active film. *Materials Science and Engineering: C*, 42, 569-577. doi: 10.1016/j.msec.2014.05.076
- Jridi, M., Hajji, S., Ayed, H. B., Lassoued, I., Mbarek, A., Kammoun, M., Souissi, N., & Nasri, M. (2014). Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin-chitosan composite edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 373-379. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.03.054
- Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 89-105. doi: 10.1016/j.tifs.2020.04.025
- Jung, E. J., Youn, D. K., Lee, S. H., No, H. K., Ha, J. G., & Prinyawiwatkul, W. (2010). Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(4), 676-682. doi: 10.1111/j.1365-2621.2010.02186.x
- Lamarra, J., Calienni, M. N., Rivero, S., & Pinotti, A. (2020). Electrospun nanofibers of poly (vinyl alcohol) and chitosan-based emulsions functionalized with cabreuva essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 307-318. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.05.096
- Liu, P., Chen, W., Liu, C., Tian, M., & Liu, P. (2019). A novel poly (vinyl alcohol)/poly (ethylene glycol) scaffold for tissue engineering with a unique bimodal open-celled structure fabricated using supercritical fluid foaming. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12. doi:10.1038/s41598-019-46061-7
- Madni, A., Kousar, R., Naeem, N., & Wahid, F. (2021). Recent advancements in applications of chitosan-based biomaterials for skin tissue engineering. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6(1), 11-25. doi: 10.1016/j.jobab.2021.01.002
- Matica, M. A., Aachmann, F. L., Tøndervik, A., Sletta, H., & Ostafe, V. (2019). Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5889. doi: 10.3390/ijms20235889
- Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Kang, K. H., Je, J. Y., Pham, H. N. D., Byum, H. G. & Kim, S. K. (2015). Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocolloids*, 51, 200-216. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.05.023
- Orchard, A., Sandasi, M., Kamatou, G., Viljoen, A., & van Vuuren, S. (2017). The in vitro antimicrobial activity and chemometric modelling of 59 commercial essential oils against pathogens of dermatological relevance. *Chemistry & Biodiversity*, 14(1), e1600218. doi: 10.1002/cbdv.201600218
- Santos, E. P., Nicácio, P. H. M., Coêlho Barbosa, F., Nunes da Silva, H., Andrade, A. L. S., Lia Fook, M. V., Silva, S. M. L., & Farias Leite, I. (2019). Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: physical and antimicrobial properties. *Materials*, 12(14), 2223. doi: 10.3390/ma12142223
- Râpă, M., Gaidau, C., Mititelu-Tartau, L., Berechet, M. D., Berbecaru, A. C., Rosca, I., Chiriac, A. P., Matei, E., Predescu, A. M., & Predescu, C. (2021). Bioactive collagen hydrolysate-chitosan/essential oil electrospun nanofibers designed for medical wound dressings. *Pharmaceutics*, 13(11), 1939. doi: 10.3390/pharmaceutics13111939
- Ren, Q., Zhu, X., Li, W., Wu, M., Cui, S., Ling, Y., Ma, X., Wang, G. Wang, L., & Zheng, W. (2022). Fabrication of super-hydrophilic and highly open-porous poly (lactic acid) scaffolds using supercritical carbon dioxide foaming. *International Journal of Biological Macromolecules*, 205, 740-748. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.107
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S. (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(3), 365-379. doi: 10.1080/07388551.2020.1713719
- Rodríguez-Vázquez, M., Vega-Ruiz, B., Ramos-Zúñiga, R., Saldaña-Koppel, D. A., & Quiñones-Olvera, L. F. (2015). Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. *BioMed Research International*, 2015. doi: 10.1155/2015/821279

Rojas-Grati, M. A., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P. R., Martín-Belloso, O., Pan, Z., & McHugh, T. H. (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81(3), 634–641. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.01.007

Saad, N. Y., Muller, C. D., & Lobstein, A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5), 269–279. doi: 10.1002/ffj.3165

Shariatnia, Z. (2019). Pharmaceutical applications of chitosan. *Advances in Colloid and Interface Science*, 263, 131–194. doi: 10.1016/j.cis.2018.11.008

Sikorski, D., Bauer, M., Frączyk, J., & Draczyński, Z. (2022). Antibacterial and Antifungal Properties of Modified Chitosan Nonwovens. *Polymers*, 14(9), 1690. doi: 10.3390/polym14091690

Sultankulov, B., Berillo, D., Sultankulova, K., Tokay, T., & Saparov, A. (2019). Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomolecules*, 9(9), 470. doi: 10.3390/biom9090470

De Sousa, L. M. M., Firmino, C. F., Marques-Vieira, C. M. A., Severino, S. S. P., & Pestana, H. C. F. C. (2018). Revisões da literatura científica: tipos, métodos e aplicações em enfermagem. *Revista Portuguesa de Enfermagem de Reabilitação*, 1(1), 45–54. doi: 10.33194/rper.2018.v1.n1.07.4391

Souza, M. T. D., Silva, M. D. D., & Carvalho, R. D. (2010). Revisão integrativa: o que é e como fazer. *Einstein (São Paulo)*, 8, 102–106. doi: 10.1590/s1679-45082010rw1134

Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103580

Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1194. doi: 10.3390/molecules21091194

Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130. doi: 10.3390/molecules24112130