

## Avaliação de Superfície do Pessário Modificado com Quitosana

A.N.A. Lima<sup>1</sup>; M.V.T. Araújo<sup>1</sup>; W.J.B. Sousa<sup>1</sup>; R.C. Barbosa<sup>1</sup>; C.S. Vasconcelos<sup>1</sup>; R.H.N. Torres<sup>1</sup>; M.V.L. Fook<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CERTBIO – Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste/Universidade Federal de Campina Grande – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais – Campina Grande-PB.

(Recebido em 03/08/2017; revisado em 25/10/2017; aceito em 21/12/2017)  
(Todas as informações contidas neste artigo são de responsabilidade dos autores)

### Resumo:

O parto prematuro é a causa de 50% da mortalidade perinatal mundial e sua prevenção tem sido alvo de estudos devido às importantes repercussões para o feto e também para a mãe. Dentre as alternativas de prevenção mais usadas estão a administração de medicamentos, realização de cerclagem e uso do pessário vaginal. Este último, entretanto, tem provocado efeitos colaterais que podem ser diminuídos por meio da modificação de superfície do mesmo, a exemplo do uso da quitosana, melhorando o contato entre este biomaterial e a mucosa vaginal. A quitosana é um biopolímero que apresenta características de adesividade, hidrofiliabilidade e de intumescimento. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi realizar a modificação de superfície do pessário com quitosana e comparar as suas características morfológicas, físicas e químicas. Para a modificação de superfície do pessário foi empregada a técnica de dip-coating com a deposição da quitosana. As técnicas de caracterização utilizadas foram Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difrração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Molhabilidade por Medida de Ângulo de Contato. Foi possível verificar pelo ensaio de FTIR que a matriz polimérica utilizada no pessário se trata do silicone (polidimetilsiloxano) e que há um indicativo da formação do filme de quitosana sobre o mesmo. O difratograma de DRX indicou a formação do filme de quitosana sobre o pessário, fato esse observado pela diferença da cristalinidade entre o produto sem e com recobrimento com a quitosana. Já no MEV pode-se observar que o recobrimento foi efetivo. Na análise de Molhabilidade constatou-se que o revestimento torna o pessário mais hidrofílico. Desta forma, conclui-se que é possível fazer o recobrimento na superfície do pessário com quitosana utilizando a técnica de dip-coating e que esse recobrimento pode favorecer a interação entre o material e a parede vaginal.

**Palavras-chave:** Modificação de superfície; Biomateriais; Pessário; Quitosana

### Abstract:

Preterm birth is the cause of 50% of worldwide perinatal mortality and its prevention has been studied because of the important repercussions for the fetus and also for the mother. Among the most commonly used prevention alternatives are medication administration, cerclageing and vaginal pessary use. The latter, however, has caused side effects that can be reduced by means of the surface modification of the same, as the use of chitosan, improving the contact between this biomaterial and the vaginal mucosa. Chitosan is a biopolymer that exhibits characteristics of adhesiveness, hydrophilicity and swelling. In this context, the objective of this work was to perform the surface modification of the pessary with chitosan and to compare its morphological, physical and chemical characteristics. For the surface modification of the pessary the technique of dip-coating with the deposition of the chitosan was used. The characterization techniques used were Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Wettability by Contact Angle Measurement. It was possible to verify by the FTIR assay that the polymer matrix used in the pessary is the silicone (polydimethylsiloxane) and that there is an indication of the formation of the chitosan film on the same. The XRD diffractogram indicated the formation of the chitosan film on the pessary, a fact observed by the difference in crystallinity between the product without and with coating with chitosan. In the SEM, you can see that the coating was effective. In the analysis of wettability it was contacted that the coating makes the pessary more hydrophilic. Thus, it is concluded that it is possible to cover the surface of the pessary with chitosan using the dip-coating technique and that this coating may favor the interaction between the material and the vaginal wall.

**Keywords:** Surface modification; Biomaterials; Pessary; Chitosan.

## 1. Introdução

Parto prematuro é definido como o nascimento antes de 37 semanas completas de gestação, e é uma das principais causas de morbidade e mortalidade perinatal. Devido a isto, sua prevenção é um dos alvos mais importantes na obstetria atual. Ele contribui para mais de 50% da mortalidade perinatal global e ocorre em cerca de 5 a 13% das gestações, porém essas taxas não se modificaram muito nos últimos 10 anos [1,2,3].

O pessário vaginal é um dispositivo de silicone que é introduzido no fundo de saco vaginal, ao redor do útero e seria uma alternativa para as pacientes com colo curto. Tem a vantagem de ser um método não invasivo, de fácil aplicação e extração, realizado ambulatorialmente, não dependente de anestesia e não operador dependente. Como efeito colateral, foi evidenciado maior quantidade de corrimento vaginal [4,5,6].

O corrimento vaginal é uma das preocupações mais frequentes entre as mulheres, principalmente, nas que estão em idade reprodutiva. Por constrangimento ou medo, antes de procurar o médico, as pacientes com sintomas vaginais frequentemente recorrem à automedicação ou ao aconselhamento no balcão da farmácia, o qual nem sempre é realizado pelo farmacêutico [7].

Os efeitos colaterais provocados pelo uso do pessário, possivelmente podem ser diminuídos por meio da modificação de superfície do mesmo, melhorando o contato entre o biomaterial e a mucosa vaginal.

A quitosana é um biopolímero biodegradável que apresenta características de adesividade, hidrofiliabilidade e de intumescimento que possivelmente poderá ser um material de escolha para modificação de superfície do pessário. A mesma pode ser processada em formas de filmes, fios acarbaços e outros dispositivos [8,9]. Desta forma o objetivo do trabalho foi modificar a superfície a superfície do pessário com quitosana e comparar as suas características morfológicas, físicas e químicas.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Materiais

Nesta pesquisa foram utilizados:

- Quitosana 95% desacetilada, fornecida pela Sigma Aldrich
- Pessário Pessário AM – fornecido pela Ingámed®.
- Ácido acético glacial, P.A e hidróxido de sódio, P.A - fornecidos pela Vetec

### 2.2. Métodos

A solução de quitosana (2%) foi preparada por meio da dissolução do polímero na forma de pó com uma solução de ácido acético (1%), em agitação mecânica constante a temperatura ambiente por cerca de 2 horas. Para modificação de superfície do pessário foi empregada a técnica de dip-coating com a deposição da quitosana, onde foram formados

dois grupos: um onde o pessário foi mergulhado na solução de quitosana por 5 vezes com intervalos de 1 min para pré secagem, ficando imerso na solução por 10 segundos. Após a última retirada da solução, o pessário foi colocado em estufa por 24 h a 37° C e em seguida imerso por 30 min em solução de hidróxido de sódio a 1 M para neutralização da quitosana. No segundo grupo o pessário foi imerso em solução de quitosana por 10 segundos, retirado e em seguida imerso em uma solução de hidróxido de sódio a 1 M por 10 segundos para coagulação da quitosana. Este segundo processo foi realizado por 5 vezes e em seguida colocado em estufa por 24 h a 37° C para secagem do material e repetido a neutralização descrita no primeiro grupo. Terminada as etapas, o material foi caracterizado quanto as suas características morfológicas, físicas e químicas.

### 2.3. Codificação das Amostras

A Tabela 1 ilustra as codificações das respectivas amostras.

Tabela 1 - Denominação das amostras.

CÓDIGO	AMOSTRAS
Q	Quitosana
P	Pessário
P1	Pessário 1 metodologia
P2	Pessário 2 metodologia

Fonte: Própria

### 2.4. Caracterização

O ensaio Difração de Raios X (DRX) foi realizado por meio do aparelho da marca Shimadzu modelo 7000 Shimadzu, utilizando-se de radiação  $K\alpha$  do cobre (1,5418 Å), tensão de 40kV e corrente 30mA em um intervalo de 2θ numa varredura entre 5° e 70° a uma velocidade de 2°/min, à temperatura ambiente.

Para análise de Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), utilizou-se o equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer, em temperatura ambiente. A técnica FTIR foi realizada para identificar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras, utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650  $cm^{-1}$ .

Na Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) / Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios X (EDS) utilizou-se o microscópio eletrônico de varredura de bancada, modelo TM-1000, marca Hitachi, com aumento de até 10000x, profundidade de foco de 1mm, resolução de 30nm, 15KV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270Pa) acoplado com um detector de EDS, sem recobrimento metálico. O MEV foi utilizado para identificar a morfologia da superfície e da estrutura formada. Já o EDS foi utilizado para verificar a composição química. As micrografias foram obtidas na magnitude de 500x

Na determinação da Molhabilidade por Medidas do Ângulo de Contato, foi calculado o ângulo. Na realização desta análise foi utilizado um goniômetro desenvolvido por técnicos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG e encontra-se instalado no CERTBIO.

### 3. Resultados e Discussão

O difratograma de raios X (DRX) obtido da quitosana (Q) está ilustrado na Figura 1.

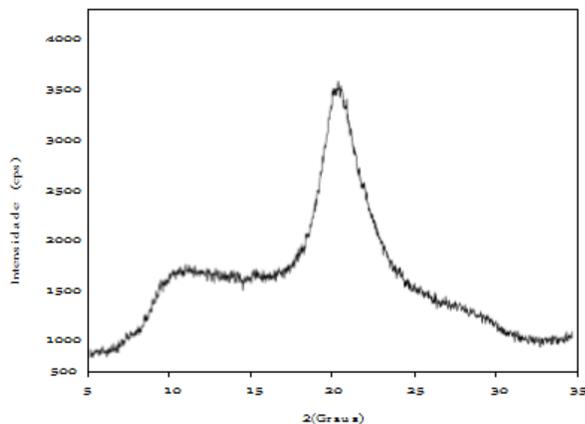


Figura 1. Difratograma da amostra de quitosana.

No difratograma de raios X para a amostra do pó de quitosana observa-se a presença de dois picos de difração próximos a 10° e 20° característicos da quitosana, típicos de material semicristalino, e condiz com a ficha JCPDS 40-1518. A quitosana possui um perfil semicristalino devido às fortes interações intra e intermolecular, caracterizado pelas pontes de hidrogênio formadas entre os grupos amina, álcool, amida e outros grupos funcionais presentes na molécula de quitosana. Essas fortes interações fornecem certa organização à estrutura cristalina da quitosana [10].

A Figura 2 ilustra o difratograma referente a amostra de pessário.

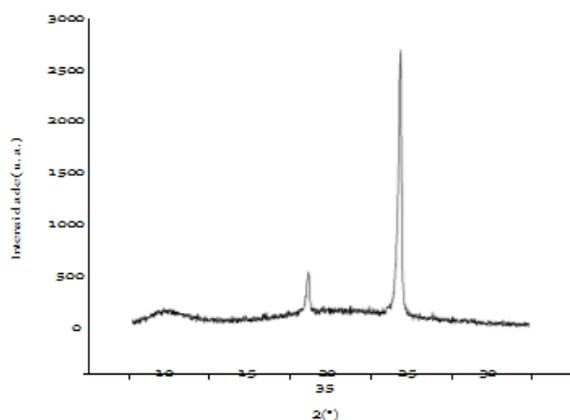


Figura 2. Difratograma da amostra de pessário.

Os picos em torno de 12,5° e 22° são representativos do polidimetilsiloxano – PDMS, porém o pico intenso de 27° pode estar relacionado a alguma carga inorgânica presente no material, podendo inferir que o pessário se trata de um compósito de silicone (polimetilsiloxano) adicionado de uma carga.

Analisando o difratograma da Figura 3, verifica-se que os mesmos possui comportamento de material semicristalino, similar ao que foi encontrado no pessário. Constatou-se uma redução na cristalinidade quando comparadas ao P, sendo esta mais acentuada na metodologia P2 onde verifica-se uma redução do pico em torno 27°, o que demonstrou que a quitosana torna a superfície do material menos cristalina.

Verifica-se picos em torno de 40°, 50°, 60° que podem ter ocorrido devido a uma não efetiva neutralização.

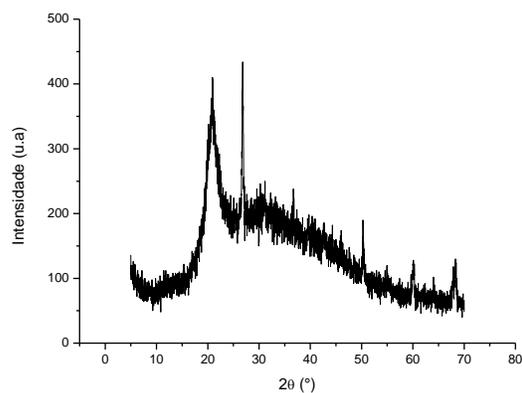
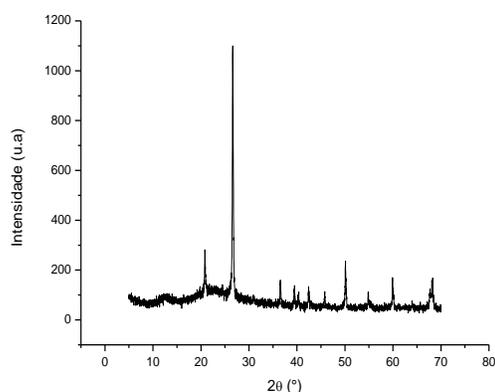


Figura 3. Difratograma de Raios X das amostra P1 e P2.

O conhecimento da cristalinidade é de suma importância para os biomateriais, pois ela influencia no desempenho *in vivo* por afetar a reabsorção e suas propriedades mecânicas. As zonas amorfas são biodegradadas e consequentemente reabsorvidas mais rapidamente que as regiões cristalinas. [11,12,13].

Pode-se observar na Figura 4, que o espectro de FTIR da quitosana apresenta presença de uma banda de absorção larga, com máxima intensidade em 3325 cm<sup>-1</sup> atribuído à sobreposição nos estiramentos dos grupos funcionais O-H

e/ou N-H, assim como as ligações de hidrogênio intermoleculares das cadeias do polissacarídeo.

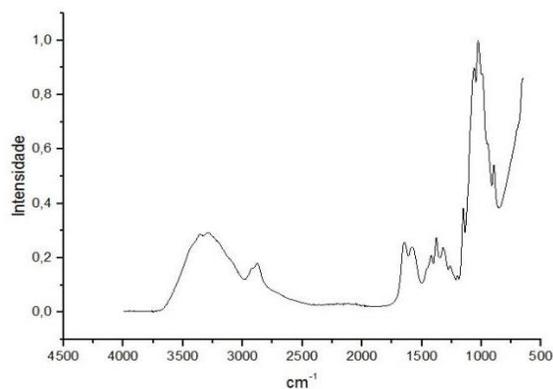


Figura 4. Espectro de FTIR do pó de quitosana.

As bandas em  $2913\text{ cm}^{-1}$  e  $2874\text{ cm}^{-1}$  são ocasionadas por vibrações de estiramento do grupo C-H assimétrico e simétrico, respectivamente dos grupos metila pertencente aos radicais da quitosana, que não foram desacetilados e os radicais metileno existentes na estrutura da quitosana, relacionado ao carbono 6 [8]. As bandas em  $1650\text{ cm}^{-1}$  e  $1575\text{ cm}^{-1}$  estão relacionadas ao modo de vibração por estiramento da ligação C=O e à deformação da ligação N-H, respectivamente. Em aproximadamente  $1420\text{ cm}^{-1}$ , pode ser detectado um sinal referente à absorção de estiramento de sais de ácido carboxílico. Na faixa de  $1380\text{ cm}^{-1}$  -  $1312\text{ cm}^{-1}$  ocorrem uma absorção que pode ser atribuída à deformação simétrica de C-H. As vibrações C-O-C podem ser detectadas em  $1155\text{ cm}^{-1}$ . As vibrações ente  $1250\text{ cm}^{-1}$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas, ao estiramento C-O de alcoóis. A absorção ocorrida  $900\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à presença de - C-H e em  $852\text{ cm}^{-1}$  a banda C-O.

Observa-se na Figura 5 o resultado de Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier da superfície do pessário.

Os valores característicos de absorção dos grupos funcionais encontrado no material estudado estão de acordo com o descrito pelas normas ABNT NBR ISSO 14949:2011 e a Francesa, NF S99-401 como pode ser observado na Tabela 2.

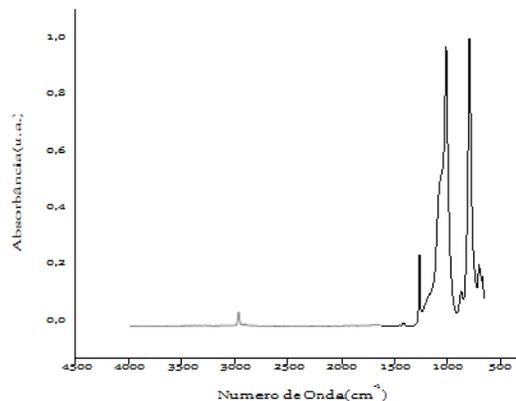


Figura 5. Espectro de FTIR da superfície do pessário.

Tabela 2 - Picos de Absorção de referência para os grupos funcionais presentes na norma NF S99-401:1994

Grupos	Número de Onda ( $\text{cm}^{-1}$ )
-Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -O-Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -	2905-2960; 1020; 1090
-Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	2905-2960; 1250; 840; 765
-Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2905-2960; 1250; 855; 805
Si-CH <sub>3</sub>	2905-2960; 1245-1275; 760-845
Si-H	2100-2300; 760-910
Si-OH	3695; 3200-3400; 810-960
Si-CH=CH <sub>2</sub>	1590-1610; 1410; 990-1020; 940-980

Fonte: Própria

Observa-se também que a presença do grupo fenil é confirmada pela absorção dos picos  $700 \pm 10\text{ cm}^{-1}$ ,  $720 \pm 10\text{ cm}^{-1}$  e  $740 \pm 10\text{ cm}^{-1}$ . Esses resultados confirmam que a matriz polimérica utilizada na produção do pessário é realmente o polidimetilsiloxano.

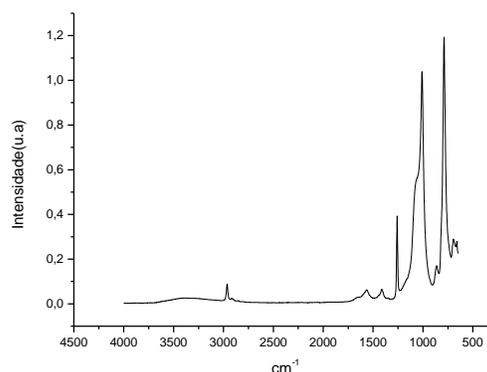
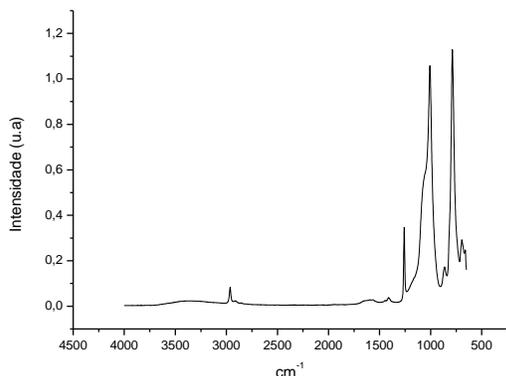


Figura 6. Espectros de FTIR P1 e P2.

Na Figura 6 verifica-se uma banda na faixa entre 3500 e 3000  $\text{cm}^{-1}$  o qual indica a presença de grupos hidroxila relativos tanto aos cristais de hidróxido de sódio em excesso quanto a película de quitosana formada, além da intensificação das bandas em aproximadamente 1000  $\text{cm}^{-1}$  e 852  $\text{cm}^{-1}$  indicativos da quitosana, corroborando com o resultado de DRX que indica a modificação da superfície do pessário.

Quando compara P1 e P2 entre si verifica-se que os espectros são semelhantes e indicam a formação de um biofilme de quitosana sobre a superfície do pessário. Constata-se na micrografia eletrônica de varredura (Figura 7) a presença de partículas distribuídas na superfície do material, com aspecto rugoso, indicando que se trata de um composto de polímero e cerâmica conforme análise química ilustrada na Tabela 3

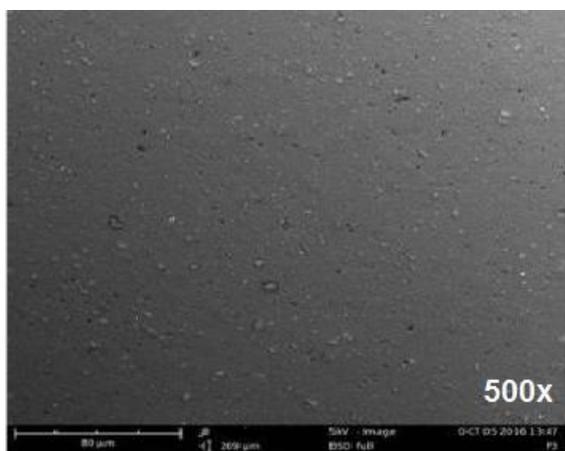


Figura 7. Micrografia Eletrônica de Varredura do pessário com magnitude de 500x.

Na Figura 8 verifica-se uma superfície rugosa com presença de estrias esbranquiçadas no material, indicando a presença da formação do filme de quitosana. No entanto foi constatado que a neutralização não foi efetiva, conforme análise química que identificou o elemento Sódio (Tabela 3).

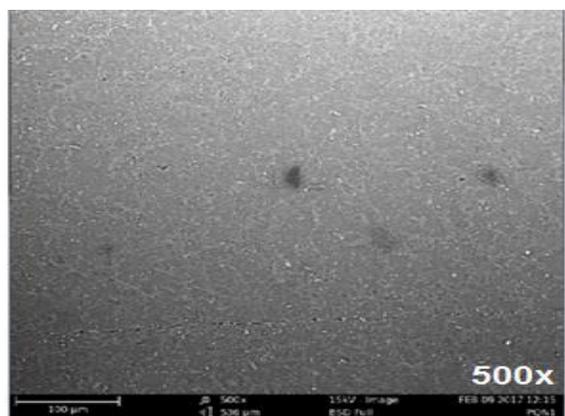


Figura 8. Micrografia Eletrônica de Varredura da amostra P1 com magnitude de 500x.

Na micrografia da amostra P2 observa-se a presença de filme recobrindo toda a superfície do material, diminuindo o aspecto de rugosidade, ou seja uma superfície lisa com presença das partículas imersas do material. A presença de filamento devido a sobreposição do filme de quitosana sobre ele mesmo. Comparado as duas metodologias observa-se que para obtenção do P2 foi mais efetiva o recobrimento e a neutralização, pois no EDS identificou uma menor quantidade o sódio (Tabela 3).

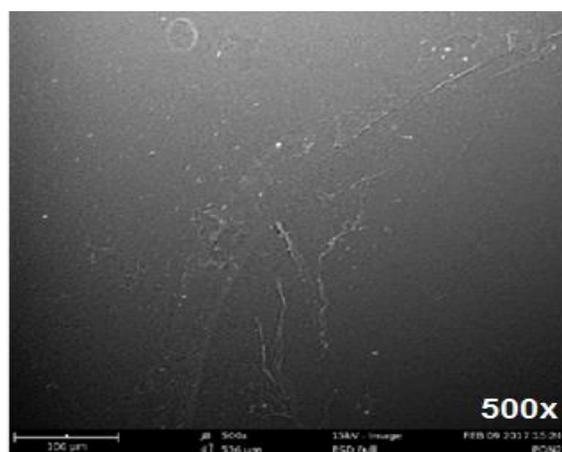


Figura 9. Micrografia Eletrônica de Varredura da amostra P2 com magnitude de 500x.

Tabela 3. Análise química por EDS das amostras em estudo

Elementos	P	P1	P2
<b>Carbono (C)</b>	-	38,7	43,5
<b>Oxigênio (O)</b>	42,6	42,2	35,6
<b>Nitrogênio (N)</b>	-	6,5	-
<b>Silício (Si)</b>	24,6	2,4	-
<b>Sódio (Na)</b>	-	3,1	1,1
<b>Cálcio (Ca)</b>	32,8	7,1	19,8

Fonte: Própria

Os resultados da Tabela 4 indicam que a neutralização da amostra P2 foi mais eficaz e que o Pessário possui uma carga inorgânica corroborando com os ensaios de DRX e FTIR.

Tabela 4 - Molhabilidade por Medida de ângulo de contato para o P, P1 e P2

Amostra	Ângulo
<b>P</b>	61,23 ± 1,34
<b>P1</b>	57,69 ± 1,11
<b>P2</b>	51,93 ± 0,98

Fonte: Própria

De acordo com os resultados (Tabela 4), verifica-se que todas as amostras apresentaram as medidas de ângulo de contato menor que 90° o que indica hidrofiliabilidade das mesmas.

Assim, pode-se inferir que a presença da película de quitosana promove um aumento da hidrofiliabilidade, logo, quanto menor for o ângulo, maior será a interação entre as moléculas. Dessa forma, a segunda metodologia favorece a interação entre água e o pessário. Como o pessário é confeccionadas para entrar em contato com o corpo humano é desejável que o mesmo seja hidrofílico.

### Conclusão

Por meio dos resultados é possível inferir que o material objeto desse estudo não se trata apenas de um material polimérico como indicado pelo fabricante, mas de um compósito que tem como matriz o polidimetilsiloxano e uma carga inorgânica. Para tanto, a modificação do pessário apresentou bons resultados, os quais podem indicar uma possível utilização do mesmo como um biomaterial, pois ficou evidente que sua modificação apresentou características desejáveis frente a problemática, entretanto são necessários mais estudos para uma futura aplicação.

### Agradecimentos

CERTBIO; UFCG; PPG - CEMat

### Referências

- [1] Liem, S.M.S.; Van Pampus, M.G.; Mol, B.W.J.; Bekedam, D.J. Cervical Pessaries for the Prevention of Preterm Birth: A Systematic Review. *Obstetrics and Gynecology International*, v.2013, n.2013, p.10, 2013.
- [2] Abdel-Aleem H.; Shaaban O.M.; Abdel-Aleem M.A. Cervical pessary for preventing preterm birth. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2013. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD007873.pub3/pdf/abstract> Acesso em 18 agosto 2016.
- [3] Goya, M.; Pratcorona, L.; Merced, C.; Rodo, C.; Valle, L.; Romero, A.; Juan, M.; Rodríguez, A.; Muñoz, B.; Santacruz, B.; Bello-Muñoz, C.J.; Llurba, E.; Igueras, T.; Cabero, L.; Carreras, E. Cervical pessary in pregnant women with a short cervix (PECEP): an open-label randomised controlled trial. Published online, april, 2012.
- [4] Yüce, T.; Konuralp, B.; Kalafat, E.; Söylemez, F. Pessary use in pregnant women with short cervix. *J. Turk Ger Gynecol Assoc*, v.17, p. 120-2, 2016
- [5] Parrado, R.G.; Rodríguez, A.N.; Chang, E.G.; Arias, A.M.S.; Cabrera, M.P.C.; Garrido, D.D. Caracterización del uso de pesario cerclaje como prevención del parto pretérmino. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, v.39, n.2, p. 87-97, 2013.
- [6] Cubal, A.; Pereira, S. Parto pré-termo: rastreio e prevenção. *Acta Obstet Ginecol Port*, v.8, n.3, p 276-82, 2014.
- [7] Ferracin, I.; Oliveira, R.M.W.O. Corrimento vaginal: diagnóstico e tratamento farmacológico. *Infarma*, v.17, n.5/6, 2005 Calculated from ICSD using POWD-12++.1997.
- [8] Fidéles, T. B. Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciência e Tecnologia. Campina Grande, 2010.
- [9] Dash, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R.M.; Chiellini, E. Progress in Polymer Science. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Special Issue on Biomaterials*. v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.
- [10] Uragami, T.; Tokura, S. *Materials Science of Chitin and Chitosan*. Japan: Kodansha Ltd., 2006.
- [11] Duarte, M.A.T. Estudo do processamento e da biodegradação do poli(3hidroxibutirato) e de suas blendas com poli(ε-caprolactona). Joinville. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade do Estado de Santa Catarina, 2004
- [12] Conz, M. B.; Granjeiro, J. M. Soares, G. A. - *J. Appl. Oral Sci.*, 13, p.136 (2005). PMID:18509122.
- [13] Shishatskaya, E.I.; Khlusov, I.A.; Volova, T.G. A hybrid PHB hydroxyapatite composite for biomedical application: production, in vitro and in vivo investigation. *Journal of Biomaterial Science Polymer Edition*, v.17, n.5, p. 481-498, 2006.