

UTILIZAÇÃO DE ZEÓLITA 13XHP REVESTIDA COM CÁTIONS DE PRATA NA DESTRUIÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Flávio Torres de Alvarenga Filho¹; Rubia Goulart² Leo Kunigk³; Cynthia Jurkiewicz³

¹Aluno de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

²Aluna de Mestrado da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

³Professor da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

Resumo. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de zeólita revestida com cátions de prata na concentração de 0,0025 M (Zn-Ag) na destruição de *Staphylococcus aureus*. Sabendo que prata possui propriedades antimicrobianas preparou-se um filme de silicone contendo Zn-Ag e este filme foi posto em contato com uma solução salina peptonada contendo *S. aureus* (10^8 UFC). Verificou-se que a zeólita 13XHP contendo prata presente em filme de silicone foi capaz em provocar uma redução de 6 ciclos logarítmicos ou seja de 99,9999% na população de *Staphylococcus aureus*.

Introdução

Zeólita é o termo usado para designar um grupo de minerais que possuem estruturas formadas por uma rede de alumino silicatos cristalinos tridimensional (Scott and Kathleen, 2003), conforme a Figura 1. As aberturas dos poros são limitadas pelos átomos de oxigênio dos tetraedros conectados. Devido às possibilidades de combinação dos tetraedros, conforme ilustrado na figura 2(a- estrutura do tipo A e b- estrutura do tipo X e Y), as zeólitas apresentam grande diversidade estrutural e química.

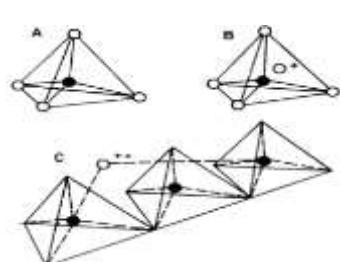


Figura 1: Forma estrutural da zeólita (Callister, 2013).

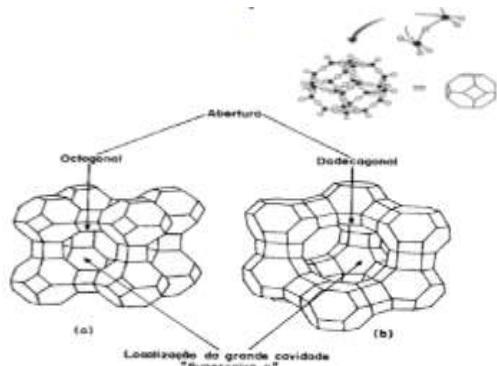


Figura 2: Arranjo tetraedro zeólita (Callister, 2013).

A zeólita possui o sódio como cátion trocável e as características estruturais e composições químicas dependem da temperatura, pressão, pH, concentração, fontes de alumínio e silício, que são ajustadas durante a produção das zeólitas. A ação antibacteriana da prata se deve à sua ação sobre as moléculas de DNA do microrganismo impossibilitando sua capacidade de multiplicação (Zhang et al. 2008).

O íon prata atua na atividade celular pela ação: $R-S-H+Ag^+ \rightarrow R-S-Ag+ H^+$, o radical S-Ag afeta fortemente o crescimento bacteriano, mantendo sua ação constante e permanente. Dependendo da concentração dos íons de prata, das condições do meio e dos tipos de colônias de microrganismos, pode-se fazer o produto bactericida atuar não só na eliminação de microrganismos mas também na sua ação biostática, ou seja na inibição da multiplicação de microrganismos. Zhang et al. (2008) mostraram que zeólita contendo prata provou ser um veículo útil no controle microbiano de materiais dentários.

Material e métodos

Materiais para incorporação da prata

Materiais e equipamentos utilizados durante a incorporação de prata estão listados a seguir:

Zeólita 13XHP (Celta Brasil)
Nitrato de prata (Vetec Química Fina)
Ácido clorídrico(Vetec Química Fina)
Vidraria de laboratório
Balança analítica METTLER TOLEDO modelo PB303-L
Agitador automático marca IKA e modelo RW 20
Bomba a vácuo Prismatec e modelo 131
Estufa Ethik Technology modelo 400-4ND

Incorporação da prata

Para obter-se uma concentração pré-determinada de prata (0,0025 M) utilizou-se 2,125 g de nitrato de prata solubilizada em 500,0 mL de agua deionizada e em seguida transferida para um balão volumétrico para homogeneizar a solução. Para cada 1,0 g de zeólita é necessário 40,0 mL da solução de nitrato de prata. Para este procedimento utilizou-se 12,5 g de zeólita 13XHP, no qual transferiu-se nessa mesma proporção para potes de 200,0 mL, em seguidas embrulhadas em papel alumínio e esses potes foram anexados ao agitador por 24,0 horas a temperatura ambiente para incorporação da prata na zeólita.

Após 24,0 horas a zeólita precisa ser lavada, para esta parte utilizou-se uma bomba a vácuo, filtro e agua deionizada. Transfere-se aos poucos a zeólita no papel de filtro e esperar que seja filtrada toda a agua. Em seguida, recolher aproximadamente 15,0 mL do filtrado e gotejar HCl (3,0%) para verificar se toda a prata foi incorporada na zeólita, caso não formasse precipitado branco no fundo não havia prata em solução. Em seguida toda zeólita filtrada era transferida para um bêquer e secada em estufa a 90,0 °C por uma noite para remover toda a água em excesso.

Materiais do experimento

Os materiais a seguir foram utilizados para a determinação da eficiência da Zn-Ag com o silicone:

Pistilo
Almofariz
Placa de petri de vidro esterilizada
PCA (*plate count agar, Oxid*)

Solução salina (0,85%)
Peptona (Oxid)
Vidraria de laboratório de microbiologia
Stomacher (New Brunswick Scientific e modelo G-25)
Silicone
Espectrofotômetro (Micronal e modelo B295II)
Estufa (FANEM LTDA e modelo 002 CB)
Contador de colônias (PHOENIX modelo CP600 Plus)

Procedimento

Após a secagem da Zn-Ag em estufa a zeólita foi macerada para reduzir o tamanho das partículas e aumentar a superfície de contato, em seguida foi misturada com silicone na proporção de 1,0 g Zn-Ag para 9,0 g de silicone formando um filme em uma placa de petri e colocado para secar por 24,0 horas longe da luz. Colocou-se 20,0 mL de PCA – utilizado para a conservação de e germinação de microrganismos em geral – em uma placa de petri para cultivo do *S. aureus*, para o cultivo do *S. aureus* utilizou-se uma alça de platina e um bico Bunsen, o bico de Bunsen foi utilizado para flambar a alça para evitar a contaminação do meio, em seguida foi feito o inoculo e deixou em crescimento por 24,0 horas em estufa a 36,0 °C. Novamente utilizou a alça para transferir o *S. aureus* uma solução peptonada (0,1%) para fazer a leitura da transmitância, o objetivo nesse experimento era obter uma transmitância de 70,0 %. Em seguida retirou-se 20,0 mL da solução contaminada, com uma pipeta de 25,0 mL esterilizada, transferiu-se para o filme de silicone ja incorporado com prata e incubou na estufa a 25,0 °C por diferentes tempos: 6,0; 12,0 e 24,0 horas.

A contagem inicial de *S. aureus* foi feita a partir da retirada de 1,0 mL da solução peptonada contaminada e foram feitas diluições ate 10^{-7} , com uma pipeta de 1,0 mL esterilizada, em tubos de ensaio com solução salina (0,85%) e plaqueamento até 10^{-1} em placas de petri com PCA.

Para conhecer a redução no líquido sobrenadante retirou-se, com a ajuda da pipeta de 1,0 mL, uma amostra da solução que esteve em contato com o filme, a seguir foram feitas diluições seriadas ate 10^{-7} , com uma pipeta de 1,0 mL esterilizada, em tubos de ensaio com solução salina (0,85%) e plaqueamento até 10^{-1} em placas de petri com PCA. em seguida foi incubado de 24,0 a 48,0 horas a 36,0 °C. Em seguida foi realizada a contagem com o contador de colônias.

Para conhecer o quanto o silicone foi eficiente foi feita a fragmentação do filme e utilizou-se 5,0 g do filme para 45,0 g de solução salina (0,85%) para homogeneizar e em seguida colocado no Stomacher por 2,0 minutos a 230 rpm. a seguir foram feitas diluições seriadas ate 10^{-7} , com uma pipeta de 1,0 mL esterilizada, em tubos de ensaio com solução salina (0,85%) e plaqueamento até 10^{-1} em placas de petri com PCA. em seguida foi incubado de 24,0 a 48,0 horas a 36,0 °C. Em seguida foi realizada a contagem com o contador de colônias.

Resultados e discussão

Os principais resultados obtidos são apresentados na Tabela 1. A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos tanto na suspensão sobrenadante ao filme de silicone como sobre o próprio filme de silicone.

Tabela 1 – Log UFC de *S. aureus* sobreviventes após a exposição à 13HP-Ag.

	Tempo de contato (horas)		
	24,0	12,0	6,0
População inicial	8,15	7,24	8,92
Silicone	2,55	2,90	2,22
Líquido sobrenadante	1,35	0,00	4,49

A Figura 3 ilustra o número de reduções decimais da população de *S. aureus* devido à exposição de zeólita 13HP-Ag. İyigündoğdu et al. (2014) também demonstraram a capacidade de zeólitas contendo cátions metálicos, inclusive de prata, em destruir diversos microrganismos incluindo *S. aureus*. Observa-se pela Figura 3 que a destruição dos microrganismos sedimentados apresenta uma destruição inicial àqueles que se encontram em suspensão como demonstrado por Kunigk et al. (2001).



Figura 3 – Número de reduções decimais provocadas pelo tratamento com Zn-Ag à população de *S. aureus*. Teste com sobrenadante com 12 h não foi realizado.

Verifica-se a partir da Figura 3 que a redução na população de *S. aureus* quando mantida em contato direto com o filme de silicone contendo Zn-Ag é reduzida em, independentemente dos tempos de contato estudados, foi de aproximadamente 6,0 ciclos logaritmos. Logo, esta deve ser a eficiência máxima de redução. Reduções menores devem ser observadas caso o tempo de contato seja inferior a 6 horas.

Por outro lado, mantendo-se a população de *S. aureus* em suspensão apresenta uma redução entre 3,6 e 6,8 ciclos logaritmos o que pode estar indicando um processo de re-suspensão da prata na solução aquosa na qual a população desse microrganismo encontra-se. Logo a eficiência chega a valores superiores a 99,9999% após 24 horas de contato.

Conclusão

Os resultados apresentados neste trabalho evidenciam que filme de silicone com zeólita contendo prata incorporado a ele, pode ser utilizado no controle desse microrganismo conseguindo uma redução superior a 99,9999% se comparado quando o microrganismo encontra-se em suspensão e da ordem de 99,999%.

Referências bibliográficas

International Zeolite Association (IZA) Database of Zeolite Structures www.iza-structure.org, acessado em 22/08/2016.

İyigündoğdu, Z, U., Demirci, S., Baç ,N. Şahin, F. Development of durable antimicrobial surfaces containing silver- and zinc-ion-exchanged zeolites. Turkish Journal of Biology v.38, p.420-427, 2014.

Kaali P, Perez-Madrigal M, Stromberg E, Aune RE, Czel G, Karlsson S. The influence of Ag^+ , Zn^{2+} and Cu^{2+} exchanged zeolite on antimicrobial and long term in vitro stability of medical grade polyether polyurethane. Express Polym Lett v.5, p.1028– 1040, 2011.

Kunigk, L. and Almeida, M.C.B.. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. Braz. J. Microbiol. 2001, vol.32, n.1, pp.38-41.

Scott, M. A, Kathleen, A. C. Handbook of Zeolite Science and Tecnology, New York, 2003.

Zhang, Y., Zhong, S, Zhang, M., Lin, Y. ntibacterial activity of silver-loaded zeolite A prepared by a fast microwave-loading method. J. Mater Sci v. 44(2), p 457–462, 2009.

Callister JR., William D. Ciência e engenharia de materiais uma introdução. 8. Ed. Rio de janeiro, RJ: LTC, 2013.