

ESTUDO COMPARATIVO DE FILMES FINOS DA LIGA AG-CU VISANDO APLICAÇÕES HOSPITALARES

Felipe Muniz do Amaral Pereira (IC) e Marcos Massi (orientador)

Apoio: PIBITI Mackenzie

RESUMO

No combate às infecções hospitalares, estudos têm apontado como uma ferramenta eficaz contra bactérias, o revestimento de instrumentos cirúrgicos por metais com propriedades bactericidas. Dois materiais conhecidos por possuírem, individualmente, efeitos bactericidas são a prata e o cobre. Ocorre que, com o avanço das pesquisas, verificou-se que a combinação desses dois metais, na forma de uma liga, apresenta uma resposta ainda mais efetiva contra diversas bactérias, inclusive, as mais resistentes. Uma das tecnologias utilizadas para o citado revestimento é a *physical vapor deposition*, pois com ela é possível alterar a superfície do material sobre o qual a liga é depositada sem alterar as suas propriedades intrínsecas. Dentre as técnicas de deposição de filmes finos à base de Ag-Cu, que utilizam a tecnologia de plasma, a presente pesquisa escolheu analisar a galvanização eletrolítica, a *High Power Impulse Magnetron Sputtering* e a deposição a laser, comparando os efeitos bactericidas de cada uma dessas técnicas sobre materiais utilizados na constituição de equipamentos hospitalares.

Palavras-chave: revestimento; liga cobre-prata; efeito bactericida.

ABSTRACT

In combating hospital infections, the studies pointed out, as an effective tool against bacteria, or the coating of surgical instruments by metals with bactericidal properties. Two materials known to have, effects, bactericidal effects are silver and copper. It turns out that, with the advancement of research, it was verified whether a combination of these two metals, in the form of an alloy, presents an even more effective response against several bacteria, including, as more resistant. One of the technologies used for the aforementioned coating is a physical vapor deposition, as it can change the surface of the material or which alloy is deposited without changing its intrinsic properties. Among the techniques for depositing thin films based on Ag-Cu, which use plasma technology, this is a study that shows electrolytic galvanizing analyzes; High Power Impulse Magnetron Sputtering and laser deposition, comparing the bactericidal effects of each of these techniques on materials used in the construction of hospital equipment.

Keywords: coating; copper-silver alloy; bactericidal effect.

1 INTRODUÇÃO

Infecções são um dos problemas mais comuns em hospitais, especialmente, em países subdesenvolvidos. Segundo a Associação Nacional de Biossegurança (ANBio), a estimativa é que mais de 100 mil pessoas ao ano morram devido a infecções hospitalares no Brasil. Esses dados se tornam ainda mais alarmantes quando comparados às Unidades de Terapia Intensiva - UTI's, onde 55,7% dos pacientes internados vão a óbito em consequência de infecções (MACHADO et al, 2017; RIGHETTI, 2011).

Compreendendo a gravidade desses números, diversas medidas vêm sendo adotadas na prevenção e no controle do ambiente e do pessoal envolvido nos cuidados hospitalares, com o objetivo de se evitar que os pacientes adquiram qualquer infecção após adentrarem ao estabelecimento de saúde (ANVISA, 2013).

Para tanto, entende-se que a padronização e a manutenção de dispositivos utilizados em ambiente hospitalar devem ser priorizadas, tendo especial atenção àqueles que entram em contato direto com os pacientes, pois tais superfícies podem servir de depósito de patógenos, como bactérias, fungos, protozoários e vírus, causadores de tais infecções. Ademais, esses patógenos ainda podem ser carregados por terceiros que entram em contato com as superfícies carregadas de germes e as transmitem (HARRIS, 1978).

Sobre o tema, alguns estudos apontam que superfícies feitas de materiais antibacterianos podem vir a se tornar uma ferramenta eficaz no combate à transmissão de infecções em ambientes hospitalares (WEBER, 2013).

Neste sentido, podem ser citados dois materiais que possuem efeito bactericida: o cobre (Cu) e a prata (Ag), em razão de serem, comprovadamente, eficientes no combate de bactérias tais como *Acinetobacter baumannii* (A. Baumannii) e *Vancomycin-resistant Enterococcus spp.* (VRE) (CASEY et al, 2010; NIAKAN et al, 2013)

A prata normalmente é utilizada na forma de nanopartículas. O seu uso em partículas menores exibe qualidades antibacterianas extraordinariamente incomuns (CHEN; SCHLUESENER, 2008; RAI; YADAV; GADE, 2009). Já o cobre e suas ligas são usados em tamanhos maiores. O cobre possui um efeito tóxico sobre as bactérias, que são atacadas pelos íons desse elemento, dissolvendo-as em sua superfície (WEAVER et al, 2010; SANTO et al, 2007; KARPANEN et al, 2012).

Quando os dois elementos são combinados a eficiência é ainda melhor do que suas propriedades bactericidas individuais. A sinergia entre eles permite que as concentrações necessárias, tanto de cobre quanto de prata, sejam consideravelmente menores do que de seus respectivos íons sozinhos (HANS et al, 2014; HUANG et al, 2008; LIN et al, 1996).

Com efeito, pesquisas realizadas demonstram que superfícies de prata e cobre tem efeitos bactericidas até mesmo sobre bactérias resistentes a antibióticos (MICHELS; NOYCE; KEEVIL, 2009; WARNES; KEEVIL, 2011).

Deste modo, a produção de equipamentos e acessórios hospitalares recobertos com uma liga Cu-Ag pode apresentar uma melhora significativa na ação bactericida. Ademais, a utilização de revestimentos com a referida liga traz vantagens econômicas e, consequentemente, resulta em valores mais acessíveis.

Assim, a utilização de filmes finos de cobre e prata no revestimento de equipamentos hospitalares, desde que compatíveis com as respostas físicas, químicas e biológicas necessárias, além de ser uma possível a chave no combate de germes, inclusive, os mais resistentes, também apresenta um melhor custo-benefício em relação a outros metais.

A utilização da tecnologia de plasma para esse revestimento se mostra pertinente, pois com ela é possível alterar a superfície do material sobre o qual é depositado sem alterar as suas propriedades de volume, ou seja, apenas a superfície do material sofre reação formando o filme fino resultante e o substrato mantêm as suas propriedades intrínsecas (GONÇALVES, 2018; TANTSCH, 2002).

Diante do exposto, esse artigo visa comparar os filmes finos à base de Ag-Cu resultantes de algumas técnicas de deposição, a saber: galvanização eletrolítica; *High Power Impulse Magnetron Sputtering* e deposição a laser, verificando os efeitos bactericidas de cada uma dessas técnicas sobre materiais utilizados atualmente na constituição de equipamentos médicos.

2 METODOLOGIA

O presente artigo, de natureza documental, foi desenvolvido a partir de consulta às principais pesquisas existentes sobre o tema. Para tanto, foram utilizados periódicos, livros, artigos e teses acadêmicas.

A coleta de dados foi realizada, principalmente, por meios eletrônicos de consulta, destacando-se o portal de periódicos do CAPES- MEC e o portal *ScienceDirect*.

As técnicas de deposição analisadas, a fim de comparar os filmes finos à base de Ag-Cu, foram: galvanização eletrolítica; *High Power Impulse Magnetron Sputtering* e deposição a laser.

Os principais autores utilizados na pesquisa biográfica foram Ciacotich *et al*, Hans *et al*, Rtimi *et al* e Yu-Hsuan Hsu *et al*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Estudos têm apontado que o revestimento de superfícies por materiais antibacterianos é uma ferramenta eficaz no combate às famigeradas infecções hospitalares (WEBER, 2013). Dois materiais que se destacam nesse conceito são a prata e o cobre por possuírem, individualmente, efeitos bactericidas. Contudo, o que se destaca é a combinação entre esses dois metais na forma de uma liga, que é ainda mais efetiva no combate a microrganismos.

A prata possui propriedades antibacterianas e, normalmente, é utilizada na forma de nanopartículas. O seu uso em partículas menores exhibe qualidades extraordinariamente incomuns (CHEN; SCHLUESENER, 2008; RAI; YADAV; GADE, 2009). Já o cobre e suas ligas são usados em tamanhos maiores. O cobre possui um efeito tóxico sobre as bactérias, que são atacadas pelos íons desse elemento, dissolvendo-as em sua superfície (WEAVER *et al*, 2010; SANTO *et al*, 2007; KARPANEN *et al*, 2012).

Com efeito, após verificar que a sinergia entre os íons prata e cobre garante uma maior eficiência contra bactérias, caso comparados isoladamente, Lin *et al* sugeriu que a permeabilização da parede celular das bactérias pelos íons de cobre facilita a interação dos íons de prata com as proteínas dentro das células e, por isso, a liga prata-cobre seria tão eficiente no combate à microrganismos.

3.1. LIGA DE COBRE E PRATA

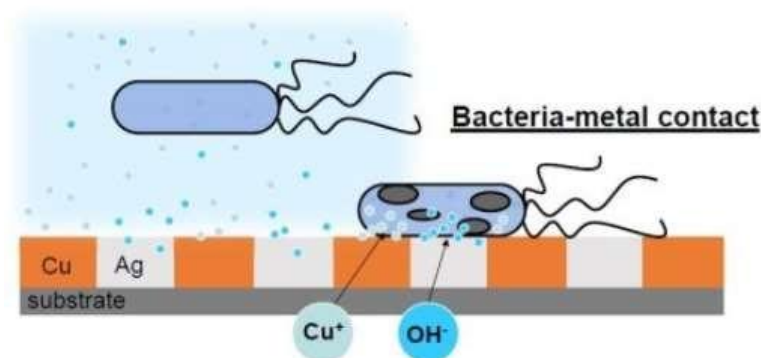
Conforme narrado na breve introdução do tema, dois materiais que possuem efeito bactericida são o cobre (Cu) e a prata (Ag), os quais têm se mostrado eficientes no combate de bactérias tais como *Acinetobacter baumannii* (A. Baumannii) e *vancomycin-resistant Enterococcus spp.* (VRE) (NIAKAN *et al*, 2013; CASEY *et al*, 2010).

O efeito antibacteriano do cobre se dá, principalmente, porque seus íons em solução (Cu⁺, Cu²⁺) induzem, simultaneamente, uma reação de oxidação e redução, agindo, assim, como um catalisador na geração de radicais livres, o que por si só, danifica a bactéria (CROSS *et al*, 2003).

De igual modo, a prata também é conhecida como um potente agente antibactericida, em razão de suas propriedades altamente eficazes (CHEN; SCHLUESENER, 2008; RAI; YADAV; GADE, 2009).

A Figura 1 representa uma bactéria sendo combatida por uma superfície à base de cobre e prata devido aos mecanismos descritos, em que a oxidação do cobre e a correspondente redução da prata liberam íons de cobre e íons de hidroxila na superfície, causando danos às bactérias que entram em contato com a mesma, resultando em sua morte (CIACOTICH *et al*, 2018).

Figura 1 – Representação Do Mecanismo De Aniquilação De Bactéria Ao Entrar Em Contato Com Superfície De Uma Liga Cobre-Prata



Fonte: CIACOTICH *et al*, 2018.

Apesar de ambos os metais apresentarem importante efeito bactericida, a combinação desses dois elementos vem sendo estudada por diversos pesquisadores como uma resposta ainda mais efetiva às bactérias.

Com efeito, de acordo com Jing, Yu e Li (2008) a liga de Cu-Ag tem um efeito bactericida e um espectro de antibiose maior que o material de Cobre. Fica ainda mais evidente a ação antibacteriana contra *B. Atrophaeus* onde há uma fina deposição de Ag sobre a superfície do Cu poroso.

Deste modo, quando combinados os dois elementos, sua eficiência é ainda melhor do que suas propriedades bactericidas individuais, tendo em vista que a sinergia entre eles permite que as concentrações necessárias, tanto de cobre quanto de prata, sejam consideravelmente menores do que seus respectivos íons sozinhos (HUANG *et al*, 2008; HANS *et al*, 2014).

Hans *et al* (2014) obteve uma resposta muito interessante ao avaliar a liberação de íons a partir de um substrato à base de cobre puro, prata pura e liga de Cu₉₀Ag₁₀. A concentração iônica de cobre no meio líquido ao utilizar a liga Cu-Ag é 28 vezes maior em relação ao cobre puro. Com isso, a aniquilação bacteriana cresce muito utilizando a combinação desses elementos, colocando-os como uma opção muito promissora em aplicações biomédicas.

3.2. FILMES FINOS

Uma das maneiras de se aproveitar as qualidades da prata e do cobre, seria na forma de revestimento de materiais hospitalares. Ocorre que, sem prejuízo de outros fatores, devido aos custos desses materiais, a criação de produtos seria dispendiosa. Todavia, quando esses materiais são utilizados na forma de filmes finos como revestimento, é possível manter as características de volume do seu substrato, garantir as qualidades bactericidas e tornar o produto mais acessível.

Filmes finos são materiais confinados em uma de suas dimensões e podem ser classificados como nanomateriais 2D, dependendo de sua espessura. Um filme fino pode ser constituído por uma ou mais camadas e essas finas camadas tem sua espessura variando na dimensão dos micrometros (10^{-6}) até nanômetros (10^{-9} m) e o seu emprego como revestimento forneceu diversas soluções para os desafios da engenharia. (TATSCH, 1996)

O objetivo principal dos filmes finos é melhorar as características superficiais dos instrumentos a serem revestidos sem alterar sua finalidade, ou seja, os filmes finos são capazes de promover modificações físicas e químicas à superfície com o mínimo de influência ao material a ser recoberto (GONÇALVES, 2018; TATSCH, 2002).

A síntese controlada de materiais, como filmes finos, sobre um substrato é conhecida como processo de deposição. Essa deposição pode ocorrer de diversas formas, a depender da característica de interesse a ser obtida.

3.3. TIPOS DE DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS

As técnicas de deposição se enquadram em duas grandes categorias, dependendo se o processo a ser empregado é físico ou químico. Deposições que utilizam o método químico são conhecidas pela sigla CVD (*Chemical Vapor Deposition*), enquanto o processo que utiliza métodos físicos é conhecido pela sigla PVD (*Physical Vapor Deposition*) (GONÇALVES, 2018; TATSCH, 2002).

A deposição por CVD ocorre através da reação química entre os gases reativos, que são condensados sobre a superfície do substrato formando uma fina camada sobre o material. No decorrer do processo, o fluxo de gases impele os vapores até a superfície do material ao mesmo tempo em que inibe subprodutos remanescentes das reações (GONÇALVES, 2018; TATSCH, 2002).

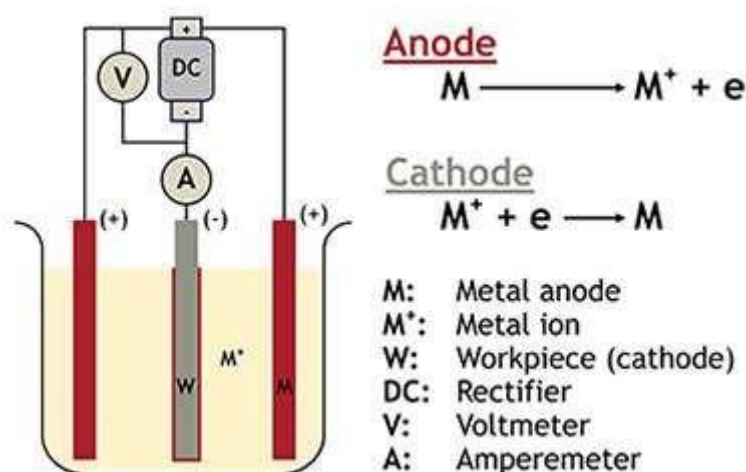
Ocorre que a deposição por PVD é similar em muitos aspectos à deposição por CVD, contudo, o PVD se aproveita de fenômenos físicos para a formação de camadas sobre o material, normalmente amparados pelo plasma que funciona como meio de transporte para que as partículas do alvo alcancem a superfície do substrato, tudo isso a baixíssimas pressões para facilitar o percurso do material vaporizado (GONÇALVES, 2018; TATSCH, 2002).

Inúmeros são os estudos já conduzidos a respeito de filmes finos como superfície anticorrosiva e suas características e os seus resultados são bem conhecidos. Porém, os estudos de filmes finos com características antimicrobianas são mais escassos e, em uma escala menor, podem ser citados os estudos relacionados a superfícies de prata e cobre com efeitos bactericidas.

3.3.1. GALVANIZAÇÃO ELETROLITICA

Um dos métodos mais comuns para a técnica de galvanização consiste em recobrir um determinado substrato com um metal através da eletrólise em meio aquoso. O substrato é posicionado no cátodo enquanto o material que se deseja depositar é posicionado no anodo. Então ambos são submersos em uma solução saturada pelo sal do metal a ser depositado (Jing, Yu e Li, 2007; Ciacotich et al, 2018).

Figura 2: Representação esquemática da deposição por galvanização eletrolítica.



Fonte: Interplex, 2018

Ciacotich *et al.* (2018) utilizaram a técnica de galvanização (*electroplating*) para criar filmes de prata e cobre em superfícies de aço inoxidável austenítico (AISI 316 and AISI 316L) e validaram as características bactericidas e a resistência a corrosão desse filme fino.

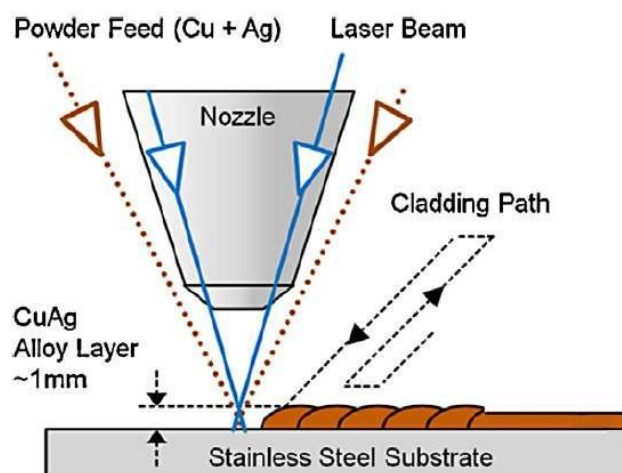
Antes do processo de galvanização, as placas de aço inoxidável foram reduzidas catodicamente através de um banho de cianeto, mantendo uma voltagem de $3 \pm 0,5$ V por cerca de dois minutos e enxaguados com água destilada. Após o enxague, as amostras passaram por um novo banho, agora de cloreto de níquel em baixo pH, a uma corrente de $4,5 \pm 0,5$ A/dm² foi aplicada por dois minutos, com a intenção promover a adesão entre o revestimento e a superfície das placas (CIACOTICH *et al.*, 2018).

Em seguida, as placas de AISI 316 e AISI 316L foram galvanizadas à uma corrente de 4 A/dm² durante um minuto em um banho de prata-cobre em um *Elplatek A/S Galvanord* comercialmente modificado. A fim de adquirir a espessura desejada, o processo foi repetido um total de quatro vezes em cada uma das amostras (CIACOTICH *et al.*, 2018).

3.3.2. DEPOSIÇÃO A LASER

Em um outro estudo conduzido acerca de revestimentos de prata e cobre com o objetivo de inibir bactérias, foi utilizada a técnica de deposição a laser. O conceito básico para essa técnica é de um laser que cria um banho de fusão ao aquecer a peça a ser revestida e através de um alimentador, um pó, do metal que se deseja revestir é pulverizado diretamente sobre a peça, formando assim filmes finos. Normalmente, um gás inerte é utilizado para proteção (Pei e Hosson, 2000, Hans *et al.*, 2014).

Figura 3: Representação esquemática da deposição a laser de uma mistura de pós de prata e cobre para gerar um filme fino de Ag/Cu sobre aço inoxidável.



Fonte: HANS *et al.*, 2014. (Adaptado)

Hans *et al* (2014) realizaram uma deposição a laser (*Laser Cladding, LC*) utilizando grãos de prata e cobre de até 44 μm , com 99,92% e 99,9% de pureza, respectivamente. Todas as amostras de aço inoxidável (AISI 304) foram polidas com partículas de óxido da grandeza de 0,05 μm e para a remoção de resíduos resultantes do polimento, o substrato de aço inoxidável foi sonificado em etanol, acetona e ciclohexano por cerca de quinze minutos e condicionados logo em seguida em uma câmara isenta de nitrogênio.

Após, os referidos autores misturaram por uma hora o pó de prata e cobre em uma proporção de 1:9 utilizando um moinho de contas (*bead mill*). Para o procedimento de LC foi utilizado um laser de diodo contínuo de 500 W ($\lambda = 800\text{-}980\text{ nm}$, LD 500-20, Laserline) e um alimentador de pó (TWIN-10-C, Sulzer Metco). O laser foi controlado com um sistema CNC de três eixos (Bosch-Rexroth). Como gás de proteção foi utilizado o Hélio.

3.3.3. HIGH POWER PULSED MAGNETRON SPUTTERING

Por sua vez, *High Power Pulsed Magnetron Sputtering* (HIPIMS) é uma técnica de deposição baseada no processo de *Magnetron Sputtering*. Mais avançada do que o seu predecessor, o HIPIMS ganhou notoriedade pela deposição mais uniforme, robusta e livre de defeitos de filmes finos (Rtimi *et al*, 2014, Purandare *et al.*, 2020).

Isso ocorre pois HIPIMS geram plasmas de alta densidade, que possuem uma relação de íons muito mais alta do que em comparação com outras formas de *sputtering*. Isso em razão da aplicação de um pico de energia e uma corrente muito altos (entre 0,1 – 3 kW/cm^2) em períodos muito curtos (em torno de μs e ms) impedindo que haja defeitos de crescimento do filme tornando-o mais denso (Lin *et al*, 2010).

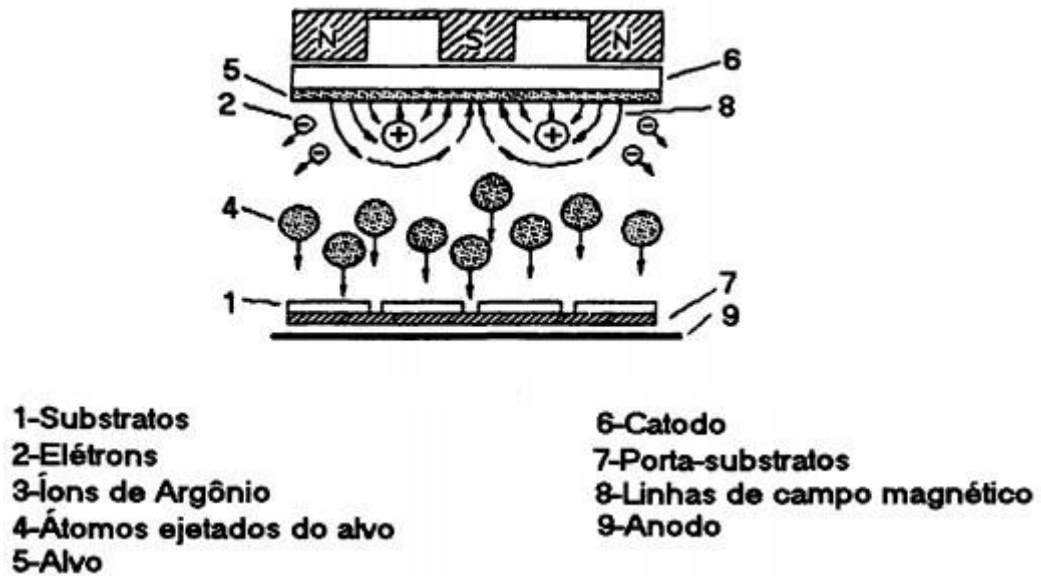
Poolcharuansin (2012) explica que apesar de a técnica de HIPIMS trabalhar com altos picos de energia, o alvo e o *magnetron* se mantêm resfriados, o que se dá devido à baixa quantidade de ciclos de trabalho dos pulsos de tensão contribuindo para manter uma elevada taxa de íons no plasma.

Inicialmente, na técnica de deposição por HIPIMS, um conjunto de bombas evacua a câmara de processo e em seguida, é inserido um gás inerte, normalmente argônio, que será usado para a produção de um plasma.

Nessa câmara há dois eletrodos, sendo que o catodo é confeccionado do material que se pretende depositar, ou seja, o alvo. O substrato, material sobre o qual o filme será depositado, é colocado no anodo a uma distância determinada do alvo. Quando uma

determinada tensão é aplicada entre esses eletrodos, há a produção de um plasma. Os íons positivos desse plasma são atraídos pelo catodo, e ao colidirem com a superfície do material alvo promovem *sputtering* (figura 4) que, após viajarem pelo plasma, atingem o substrato (Hughes, 2014).

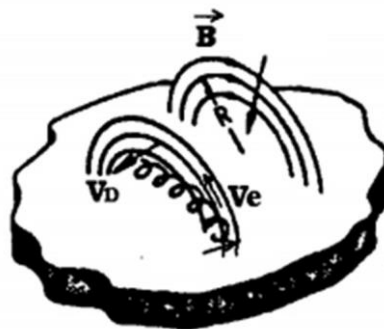
Figura 4 - Esquema de um reator que utiliza da técnica de deposição por *High Power Pulsed Magnetron Sputtering*



Fonte: FONTANA, 1997 (adaptado)

O HIPIMS, assim como o *magnetron sputtering*, faz uso de um campo magnético, de modo que ele seja normal ao campo elétrico, aprisionando os elétrons próximos ao cátodo que descrevem uma trajetória helicoidal sobre um caminho fechado, conforme exemplifica a figura 5.

Figura 5 - Movimento helicoidal de um elétron em um campo magnético



Fonte: FONTANA, 1997

Tal fenômeno potencializa a ionização do gás e restringe os íons à área próxima à superfície do alvo, evitando a perda de íons e elétrons para as paredes da câmara. Ademais, gera o aumento das colisões das espécies constituintes da fase gasosa-plasma expandindo a taxa de ionização, ou seja, o bombardeamento do alvo também é intensificado, gerando deposições muito mais eficientes (FONTANA, 1997).

Além disso, em detrimento da alta ionização, é possível se trabalhar em baixas pressões (10^{-3} a 10^{-4} Torr) e baixas tensões (~ 500 V). Com pressões tão baixas, quase não há colisão entre as partículas do gás. Isso permite aos átomos ejetados do alvo atingirem o substrato sem colidirem pelo caminho. Destarte, o espalhamento dos átomos ejetados se torna praticamente desprezível, atingindo o substrato com a mesma energia com que foram arrancados do alvo.

Hsu e Wu (2019) utilizaram a técnica de HIPIMS para depositar prata e cobre sobre um substrato não especificado. Os alvos de cobre e prata possuíam diâmetro de 152,4 mm e tinham uma pureza de 99,95% e 99,99% respectivamente. A deposição ocorreu em um sistema Huettinger Highpulse 4001 G2 com voltagem máxima de 1000 V e corrente máxima de 1000 A. com uma pressão nominal de 5×10^{-6} Torr através de uma bomba turbomolecular. A distância entre o alvo e o substrato foi de 200 mm. O substrato foi rotacionado a uma velocidade de 5 rpm para melhorar a distribuição da deposição. A frequência utilizada para o sistema foi de 250 Hz e os pulsos de prata e cobre foram repetidos em períodos de 100 e 150 μ s respectivamente. A corrente de pico foi de 50 A para a prata e para o alvo de cobre ela variou entre 80 a 200 A. A temperatura do substrato não foi maior do que 70 °C que foi medida através de um par termoeletrico próximo ao substrato.

Os referidos autores apontaram ainda que antes do processo de deposição, os dois alvos foram limpos por 5 minutos com um corrente pico de 6 A, a uma frequência de 1000 Hz pulsado em períodos de 300 μ s a um ciclo de trabalho de 30%.

3.4. MEDIÇÃO DO EFEITO ANTIBACTERIANO DOS FILMES

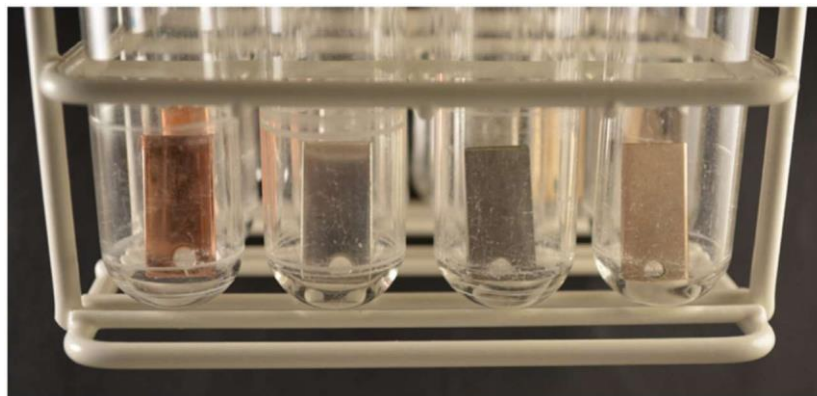
Todos as deposições citadas no tópico anterior foram testadas a fim de verificar a capacidade da liga prata-cobre em inibir o crescimento de bactérias em cultura. Todos os testes foram conduzidos em corpos de prova contendo o substrato puro sem qualquer revestimento e nos filmes finos de prata e cobre. Em alguns casos, ensaios foram realizados também na prata e cobre individualmente a fim de se verificar a potencialização do efeito de liga.

Ciacotich et al. (2018) testou a adesão de bactérias utilizando a *Staphylococcus aureus* 8325 em placas de aço inoxidável puro, em placas de cobre, placas de prata e em revestimento galvanizado de prata e cobre.

Segundo eles, após reativar as bactérias e mantê-las por dois dias à temperatura ambiente em um caldo de BHI (Brain Heart Infusion) composto de nutrientes de coração e cérebro de gado, a cultura desenvolvida foi diluída em séries de dez e transferidas para uma solução salina tamponada com fosfato (PBS) até atingir um nível de 10^7 CFU/ml.

As amostras de cobre, de prata, de AISI 316L e do revestimento de prata-cobre (figura 6) foram esterilizadas através de um aquecimento a seco para se evitar a formação de óxidos no cobre. Por fim, 2 mL da solução salina contendo as bactericidas foram adicionadas a tubos de ensaio esterilizados onde as placas estavam e foram encubadas à 25°C por cerca de meia hora.

Figura 6 - da esquerda para a direita, placa de cobre galvanizada, placa de prata galvanizada, placa de AISI 316L e placa da liga prata-cobre galvanizada.



Fonte: CIACOTICH *et al.*, 2018

Após o período de incubação, as placas foram lavadas com solução tampão estéril e adicionadas a um novo tubo de ensaio estéril contendo 2 mL de solução estéril. Esses tubos foram sonicados por quatro minutos (28-kHz, 2×150 W) e agitados na velocidade máxima por quinze minutos para facilitar o desprendimento das bactérias à superfície da placa.

Para quantificar a quantidade de bactérias vivas por unidade formadora de colônias (CFU) na superfície das placas, os valores foram calculados levando em consideração a área (4 cm^2) e o volume da solução (2 mL).

Os resultados obtidos para a fixação de bactérias *S. aureus* em cobre puro, prata pura, no revestimento de liga Ag/Cu e no aço AISI 316L sem revestimento são demonstrados na

tabela 1. A quantidade inicial de *S. aureus* era de 10^7 CFU/mL de solução, porém a sua adesão inicial à placa de prata e de aço AISI 316L eram de 10^5 CFU/cm² enquanto que a concentração de bactérias na placa de cobre era de 10^3 CFU/cm² e na superfície da placa revestida com prata-cobre a adesão foi menor do que 10^1 CFU/ cm² após meia hora.

Esses resultados confirmam o efeito bactericida de materiais revestidos com prata-cobre e atendem as expectativas, ao eliminar quase que completamente a bactéria *S. Aureus* em apenas trinta minutos de exposição da liga à bactéria.

Tabela 1 – Fixação de *S. aureus* a cobre puro, prata pura, liga de cobre-prata galvanizada e aço inoxidável não revestido AISI 316L. Os números são valores médios $\pm$ desvios padrão de três repetições biológicas.

Concentração inicial de bactérias Log (CFU/ml)	Tempo (h)	Fixação bacteriana (Log (CFU cm ⁻²)) de <i>S. aureus</i> após 0,5h			
		AISI 316L	Cobre	Prata	Prata-Cobre
7,3	0,5	4,7 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,7	4,9 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1

Fonte: CIACOTICH et al., 2018

Hans *et al.*, analisou a eficiência na ação microbica de suas placas revestidas de prata-cobre, através de uma solução contendo *E. coli* w3110 e a técnica realizada também foi o de *wet plating*.

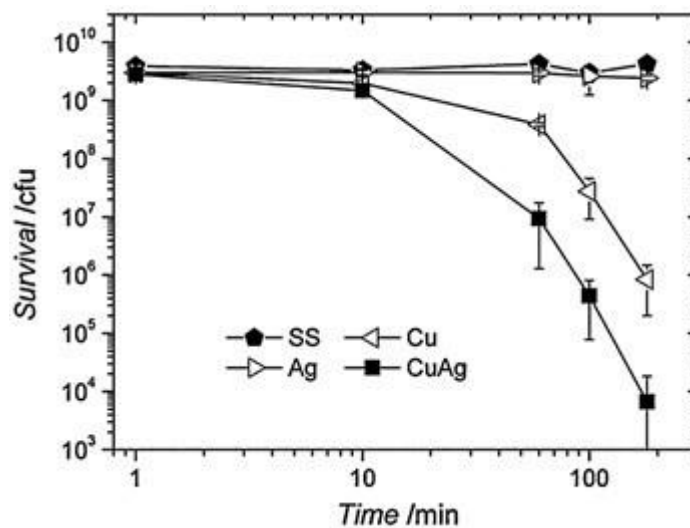
Uma cultura de *E. coli* foi cultivada aerobiamente durante a noite em *Lysogeny broth* (LB) um meio rico em proteínas e minerais para crescimento das bactérias. Para essa cultura foram utilizados 10 mL de LB à temperatura de 37 °C em um banho de água agitado a 250 rpm. Uma parcela foi retirada para determinar o título da cultura.

Os corpos de prova foram preparados previamente, após o polimento elas foram submersas em 2-propanol, secadas em um lenço de papel estéril e armazenados em placas Petri também esterilizadas. Para o ensaio, uma quantidade de 20 μ L foi adicionado às placas, logo após, elas foram incubadas em uma solução de água saturada. Foram recolhidos 15 μ L da solução de água saturada e diluídas em uma solução PBS e em seguida foram espalhadas em um ágar de LB. Após um período de incubação de 24h (37 °C), foi determinada a quantidade de bactérias viáveis (CFU).

Apesar de não apresentar a concentração inicial de CFU, Hans *et al.* demonstrou resultados eficientes quanto a ação de uma liga de Ag/Cu sobre bactérias *E. coli*. Em

aproximadamente 180 minutos, a liga de prata-cobre teve um decrescimento de aproximadamente 6 logs na quantidade de bactérias viáveis. Isso porque os íons de cobre funcionaram como metal de sacrifício no processo de oxidação bacteriana, eliminando mais bactérias no processo. Para o cobre puro, foi possível observar uma redução de apenas 4 logs de CFU. O aço inoxidável e a prata pura não apresentaram reduções significativas durante o mesmo período.

Figura 7 – Sobrevivência da *E. coli*. em ambientes úmido no aço inoxidável (SS), na prata pura (Ag), no cobre puro (Cu) e na superfície de prata-cobre depositada a laser (CuAg). A sobrevivência é determinada em unidades formadoras de colônia (CFU) durante o tempo do experimento



Fonte: HANS et al., 2014

Hsu, e Wu, utilizaram o ensaio de disco-difusão para testar a velocidade de difusão do efeito bactericida. Os corpos de prova testados foram filmes finos de prata, cobre e da liga prata-cobre. As bactérias utilizadas nos testes foram a *E. coli*. e a *P. aeruginosa* com concentrações de $1,3 \times 10^{-7}$ e $1,5 \times 10^{-7}$, respectivamente. A incubação das placas teve duração de 24h e foram mantidas a 37 °C. Após o período de incubação a zona de inibição foi medida. Essa zona é o halo em volta das amostras onde os microrganismos não conseguem crescer e o seu diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória (Sejas et al, 2003).

A figura 7 apresenta os resultados em relação a zona de inibição do ensaio realizado por Hsu e Wu. Quanto maior o diâmetro da zona de inibição melhor a eficiência do material inibidor. Os autores comparam as variações da corrente de Cu a eficiência na inativação da *E. coli* e da *P. aeruginosa*.

Ainda segundo Hsu e Wu, uma razão de cobre maior é eficiente ao combate da *E. coli*. do que a prata sozinha. Porém, para a *P. aeruginosa* quando a concentração de cobre

aumenta, a inativação decresce. O revestimento Ag/Cu depositado a 200 A com uma proporção de Cu/Ag de 4/4, assim como o filme fino de cobre puro, não tem efeito de inativação para as bactérias citadas anteriormente.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, pode-se concluir que o revestimento de instrumentos hospitalares pela liga prata-cobre, em razão de sua forte propriedade bactericida, é uma ferramenta importante e eficaz no combate às infecções provenientes de bactérias, inclusive, as mais resistentes.

Conforme visto, uma das tecnologias mais utilizadas para o citado revestimento é a *physical vapor deposition*, pois com ela é possível alterar a superfície do material sobre o qual a liga é depositada sem alterar as suas propriedades intrínsecas

O presente estudo abordou, ainda, algumas técnicas de deposição de filmes finos à base de Ag-Cu, que utilizam a tecnologia de plasma, comparando os efeitos bactericidas de cada uma dessas técnicas sobre materiais utilizados na constituição de equipamentos hospitalares.

Com efeito, no que se refere à técnica de deposição a laser, Hans *et al.* ao realizar o experimento com a referida técnica, determinou que as concentrações de bactérias viáveis em uma liga de prata-cobre diminuíram aproximadamente 6 logs em 180 minutos. Isso porque, a técnica de deposição a laser permitiu que a condição estabelecida pelos autores, a saber Cu/Ag de 9:1, mantivesse um alto grau de precisão. Essa condição fez com que os íons de cobre funcionassem como metal de sacrifício no processo de oxidação bacteriana, eliminando mais bactérias no processo.

Por sua vez, no que se refere à técnica de deposição por galvanização eletrolítica, segundo Ciacotochi *et al.*, o tempo para a redução nas unidades formadoras de colônias foi seis vezes menor do que se comparado à técnica de deposição a laser. Ou seja, enquanto Hans *et al.* afirma que a liga prata-cobre reduz a CFU em 6 logs em 180 min, Ciacotochi *et al.* atingiu o mesmo resultado em apenas 30 minutos. Assim, sem prejuízo de outros fatores não fizeram parte do escopo deste trabalho, tudo indica que a técnica de deposição de filmes finos de prata-cobre por galvanização apresenta melhores resultados no combate a bactéria *E coli.*, em relação a técnica de deposição a laser da mesma liga metálica.

Por fim, utilizando a técnica de deposição conhecida por *High Power Impulse*

Magnetron Sputtering, Hsu e Wu determinaram que a liga prata-cobre é eficiente no combate a *P. aeruginosa*. e a *E coli*. e demonstraram que a corrente empregada no alvo de cobre tem efeito determinante na inibição dos microrganismos. Contudo, não é possível compará-lo aos dois autores anteriores, pois a sua avaliação quanto a capacidade de eliminar bactérias foi diferente.

Assim, depreende-se que todas as técnicas apresentadas, embora diferentes e com particularidades próprias, são capazes de formar filmes finos de prata-cobre em revestimento de utensílios hospitalares eficazes no combate às bactérias *E coli* e *P aeruginosa*.

5. REFERÊNCIAS

Agência nacional de vigilância sanitária (br). Segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde: medidas de prevenção de infecção relacionada à assistência à saúde. Brasília (df): anvisa; 2013.

ANVISA, A. N. de V. S. (Ed.) M100-S15:Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. 2005.

ANVISA, A. N. de V. S. (Ed.) M2-A8: Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão. 2005.

Casey, a.l. Et al. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *Journal of hospital infection*, [s.l.], v. 74, n. 1, p.72-77, jan. 2010. Elsevier bv. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.08.018](http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2009.08.018).

Chen, x.; schluesener, h.j.. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicology letters*, [s.l.], v. 176, n. 1, p.1-12, jan. 2008. Elsevier bv. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004](http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004).

CROSS, J. B. et al. Killing of Bacillus Spores by Aqueous Dissolved Oxygen, Ascorbic Acid, and Copper Ions. *Applied And Environmental Microbiology*, [s.l.], v. 69, n. 4, p.2245-2252, 1 abr. 2003. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.69.4.2245-2252.2003>.

GONÇALVES, Rodolfo Luiz Prazeres. Estudo e parametrização de condições de deposição de filmes finos de liga intermetálica FeAlCr no revestimento de aço austenítico para implantes.

2018. 79f. Dissertação de mestrado em Física de Plasmas – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos.

HANS, Michael et al. Laser cladding of stainless steel with a copper–silver alloy to generate surfaces of high antimicrobial activity. *Applied Surface Science*, [s.l.], v. 320, p.195-199, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.09.069>.

HORR, Lidvina et al. Comissão de controle de infecção hospitalar. *Revista brasileira de enfermagem*, [s.l.], v. 31, n. 2, p.182-192, 1978. Fap unifesp (scielo). [Http://dx.doi.org/10.1590/0034-716719780002000005](http://dx.doi.org/10.1590/0034-716719780002000005)

HUANG, hsin-i et al. In vitro efficacy of copper and silver ions in eradicating pseudomonas aeruginosa, stenotrophomonas maltophilia and acinetobacter baumannii: implications for on-site disinfection for hospital infection control. *Water research*, [s.l.], v. 42, n. 1-2, p.73-80, jan. 2008. Elsevier bv. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.003](http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.003).

HUGHES, Matt. What Is Sputtering? Magnetron Sputtering? 2014. Disponível em: <<http://www.semicore.com/what-is-sputtering>>. Acesso em: 07 abr. 2019.

JING, Hemin; YU, Zhiming; LI, Li. Antibacterial properties and corrosion resistance of Cu and Ag/Cu porous materials. *Journal Of Biomedical Materials Research Part A*, [s.l.], v. 87, n. 1, p.33-37, out. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.31688>.

Karpanen, t. J. Et al. The antimicrobial efficacy of copper alloy furnishing in the clinical environment: a crossover study. *Infection control & hospital epidemiology*, [s.l.], v. 33, n. 01, p.3-9, jan. 2012. Cambridge university press (cup). [Http://dx.doi.org/10.1086/663644](http://dx.doi.org/10.1086/663644).

LIN, Y. S. E. Vidic, R. D.; Stout, J. E.; Yu, V. L. Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*, *Water Res.* 30(1996) 1905. Disponível em: <<http://legionella.org/individual-and-combined-effects-of-copper-and-silver-and-silver-ions-on-inactivation-of-legionella-pneumophila/>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

MACHADO, Flavia r et al. The epidemiology of sepsis in brazilian intensive care units (the sepsis prevalence assessment database, spread): an observational study. *The lancet infectious diseases*, [s.l.], v. 17, n. 11, p.1180-1189, nov. 2017. Elsevier bv. [Http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30322-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30322-5).

MICHEL, H.T.; NOYCE, J.O.; KEEVIL, C.W.. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant staphylococcus aureus challenged antimicrobial materials containing silver and copper. Letters in applied microbiology, [s.l.], v. 49, n. 2, p.191-195, ago. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765x.2009.02637.x>.

NIAKAN S, Niakan M, Hesarak S, Nejadmoghaddam Mr, Moradi M, Hanafiabdar M, et al. Comparison the antibacterial effects of nanosilver with 18 antibiotics on multidrug resistance clinical isolates of acinetobacter baumannii. Jundishapur j microbiol. 2013;6(5). Disponível em: <http://jjmicrobiol.portal.tools/?page=article&article_id=8341>. Acesso em 24 mar 2019.

POOLCHARUANSIN, Phitsanu. The development of electrical plasma diagnostics for HiPIMS discharges. 2012. 145 f. Tese (Doutorado) - Curso de Philosophy, University Of Liverpool, Liverpool, 2012.

RAI, MAHENDRA; YADAV, ALKA; GADE, ANIKET. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology advances, [s.l.], v. 27, n. 1, p.76-83, jan. 2009. Elsevier bv. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>.

RIGHETTI, Sabine. Só 1% dos hospitais têm normas rígidas contra as infecções. Folha de s. Paulo. São paulo, 24 jul. 2011. Saúde, p. C12-c12. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/fsp/saude/sd2409201101.htm>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

Santo, C. E. Et al. Contribution of copper ion resistance to survival of escherichia coli on metallic copper surfaces. Applied and environmental microbiology, [s.l.], v. 74, n. 4, p.977-986, 21 dez. 2007. American society for microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.01938-07>.

TATSCH, PETER J.. Deposição de filmes finos. In: swart, jacobus w. Et al. Oficina de microfabricação: projeto e construção de ci's mos: livro texto e laboratório. Campinas: unicamp, 2002. Cap. 11. P. 15-16. Disponível em: <<https://www.ccs.unicamp.br/cursos/ee941/download/cap11.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2019.

TATSCH; P.J. DEPOSIÇÃO DE FILMES FINOS. 5ª OFICINA DE MICROELETRÔNICA,

WARNES, S. L.; KEEVIL, C. W.. Mechanism of copper surface toxicity in vancomycin-resistant enterococci following wet or dry surface contact. Applied and environmental microbiology, [s.l.], v. 77, n. 17, p.6049-6059, 8 jul. 2011. American society for microbiology. [Http://dx.doi.org/10.1128/aem.00597-11](http://dx.doi.org/10.1128/aem.00597-11).

WEAVER, Et al. Potential action of copper surfaces on meticillin-resistant staphylococcus aureus. Journal of applied microbiology, [s.l.], v. 109, n. 6, p. 2200-2205, 11 out. 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2010.04852.x>>. Acesso em: 24 mar. 2019.

Weber, David J.; Anderson, Deverick; Rutala, William A.. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. Current opinion in infectious diseases, [s.l.], v. 26, n. 4, p.338-344, ago. 2013. Ovid technologies (wolters kluwer health). [Http://dx.doi.org/10.1097/qco.0b013e3283630f04](http://dx.doi.org/10.1097/qco.0b013e3283630f04).

Contatos: femuniza@gmail.com e marcos.massi@mackenzie.br