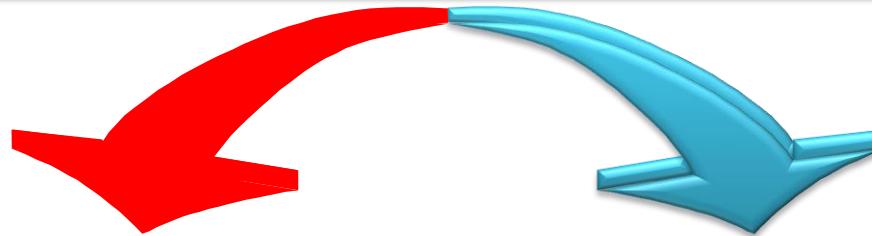


Controle do crescimento microbiano por agentes físicos e químicos



Prof. Marcio Dias

Controle de Microrganismos

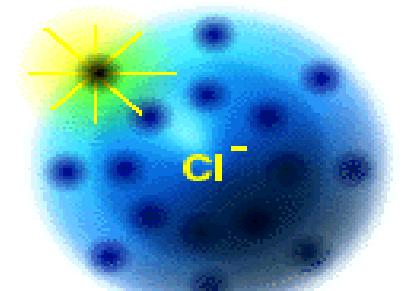


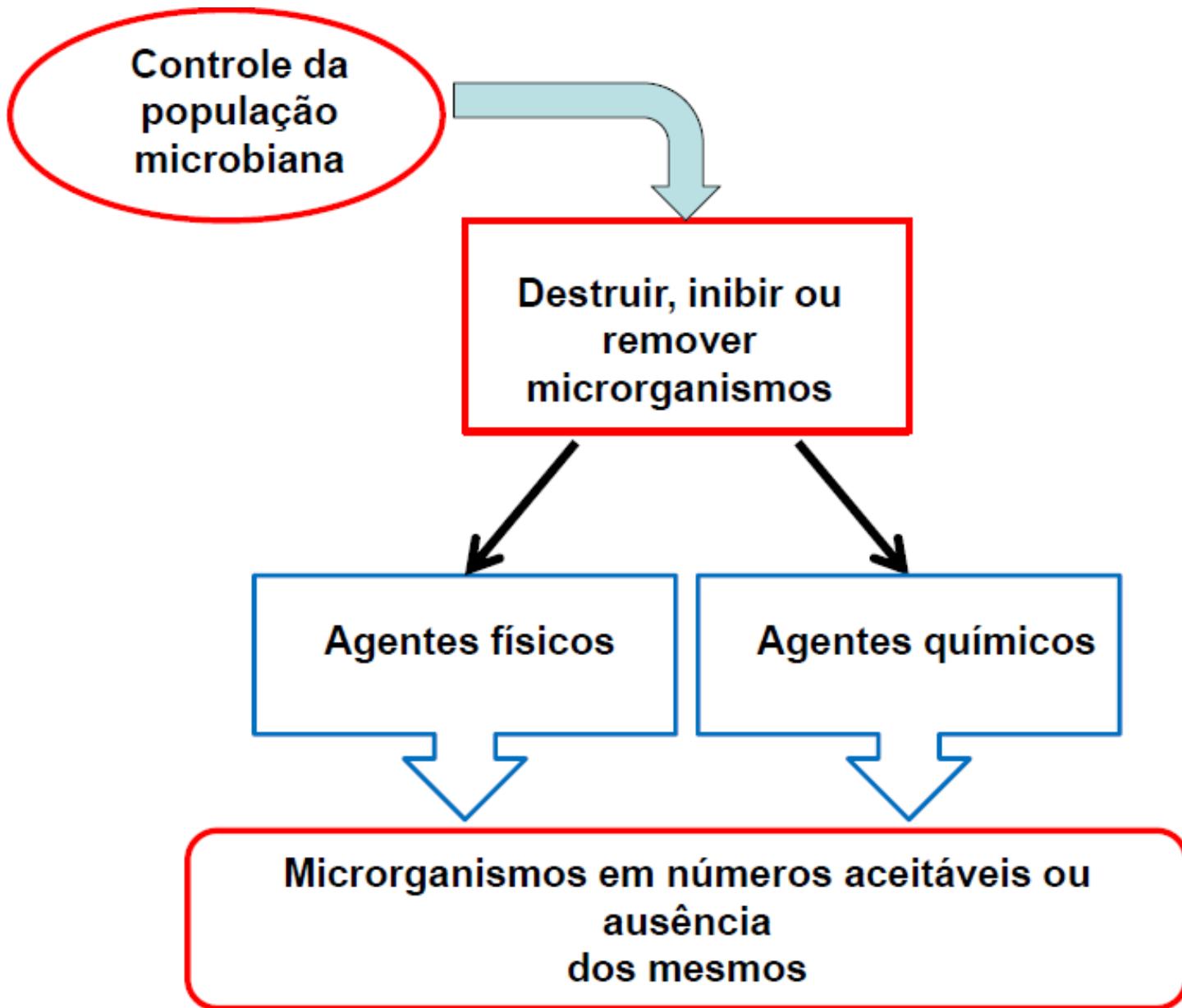
Agentes
Físicos

Agentes
Químicos



Antimicrobianos





Terminologia do controle microbiano

Processo:

-Esterilização



-Esterilização comercial



-Desinfecção



-Anti-sepsia ou
Degerminação



-sanitização



Definições para o controle microbiano em relação ao processo

Esterilização: destruição de todas as formas de vida microbiana ;

Esterilização comercial: destruição dos endosporos de *Clostridium botulinum*;

Desinfecção: Mata tudo menos endosporos, reduz contaminação na superfície de objetos inanimados

Antissepsia e degerminação : Termos dirigido aos tecidos vivos, geralmente remoção mecânica.

Sanitizantes: Redução das contagens de microrganismos a níveis considerados seguros

Terminologia com relação ao efeito sobre os microorganismos

-Sufixo –cida



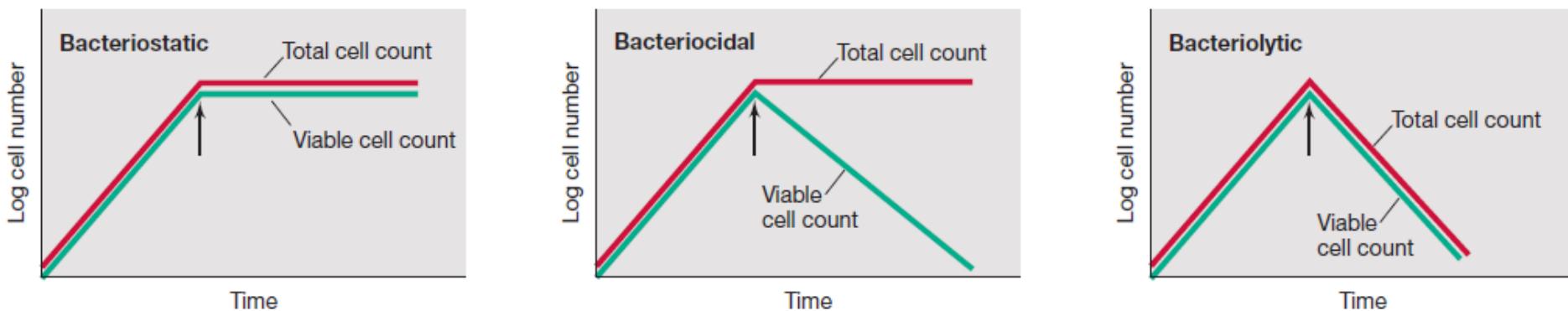
-Sufixo – stático



-Sepse



Terminologia com relação ao efeito sobre os microorganismos (curva de crescimento)



Taxa de morte microbiana

**TABLE 7.2 Microbial Exponential Death Rate:
An Example**

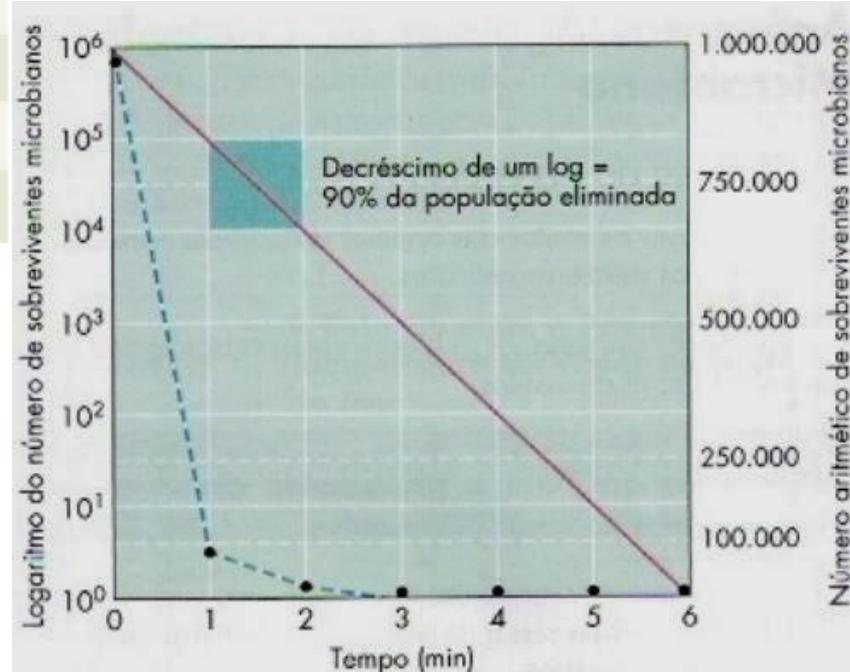
| Time (min) | Deaths per Minute | Number of Survivors |
|------------|-------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 1,000,000 |
| 1 | 900,000 | 100,000 |
| 2 | 90,000 | 10,000 |
| 3 | 9000 | 1000 |
| 4 | 900 | 100 |
| 5 | 90 | 10 |
| 6 | 9 | 1 |

Taxa de morte microbiana

Microbial Exponential Death Rate:

TABLE 7.2 An Example

| Time (min) | Deaths per Minute | Number of Survivors |
|------------|-------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 1,000,000 |
| 1 | 900,000 | 100,000 |
| 2 | 90,000 | 10,000 |
| 3 | 9000 | 1000 |
| 4 | 900 | 100 |
| 5 | 90 | 10 |
| 6 | 9 | 1 |



(a) A curva é representada logaritmicamente (linha sólida) e aritmeticamente (linha tracejada). Nesse caso, as células estão morrendo em uma taxa de 90% por minuto.

Motivos para controle microbiano

- Inibir propagação de bactérias patogênicas:
 - humanos
 - animais
- Conservação de alimentos;
- Contaminação da Água e ambiente;
- Aumento da validade de produtos alimentícios;



Por que não devemos comprar
alimentos enlatados e
“estufados”?

Por que o leite de caixa
dura mais que o “leite
de saco”?

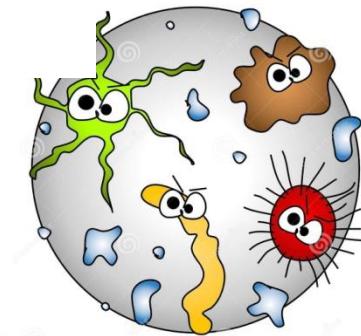


Fatores que influenciam na efetividade dos tratamentos antimicrobianos

-Número de micróbios



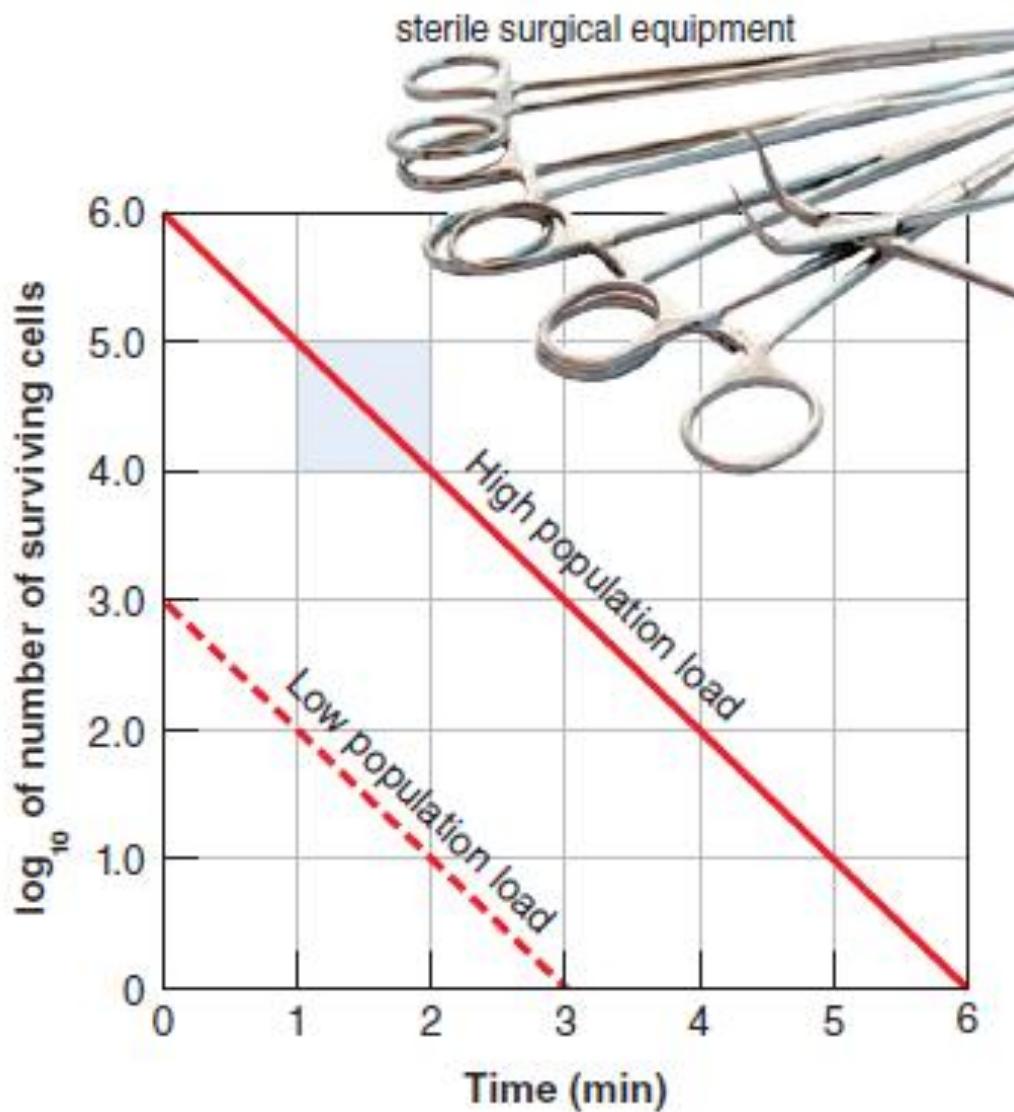
-Influências ambientais



-Tempo de exposição

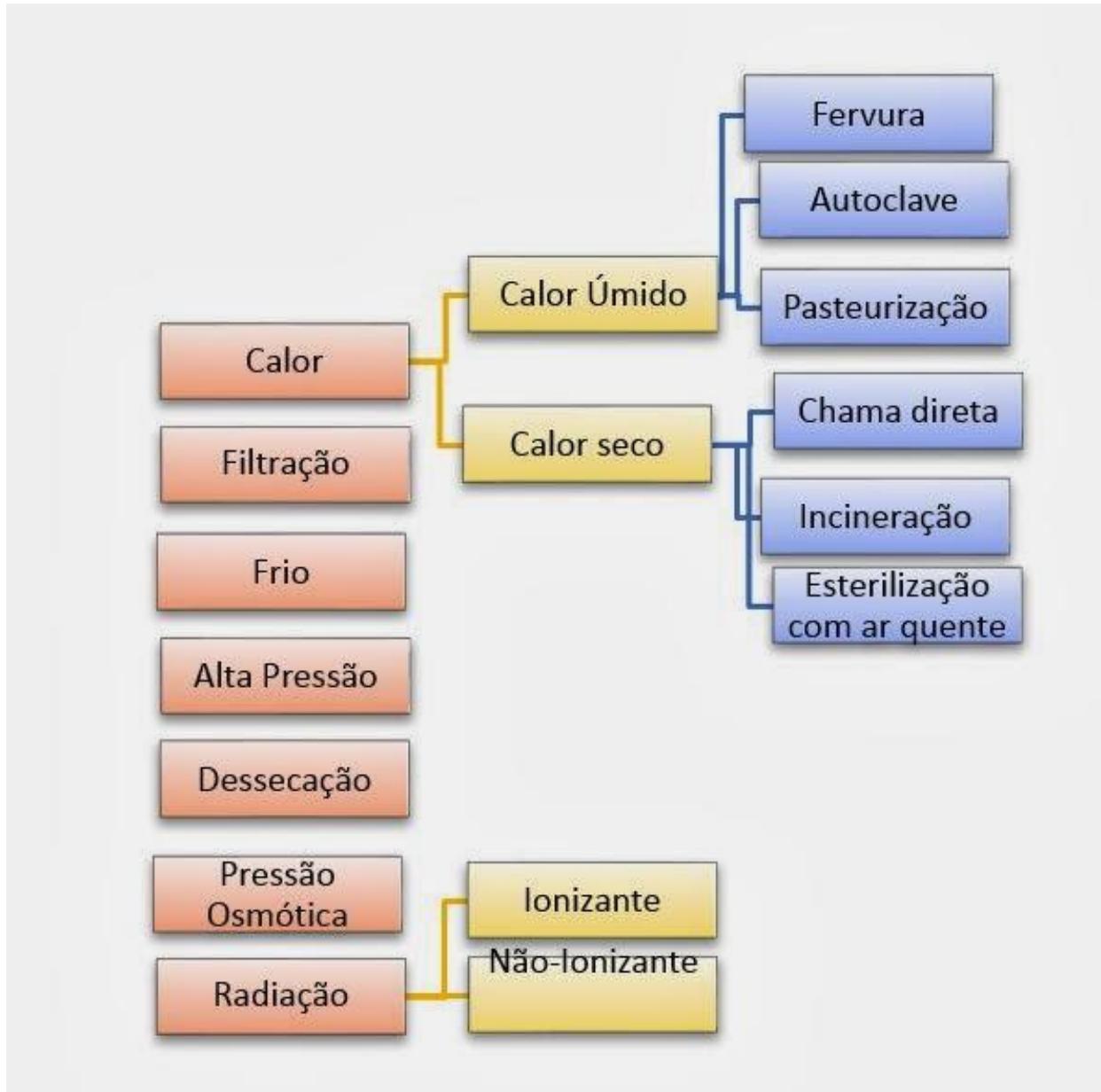
-Características microbianas

Efeito do tamanho da população inicial de micróbios



Agentes Físicos

Métodos físicos no controle microbiano



Calor

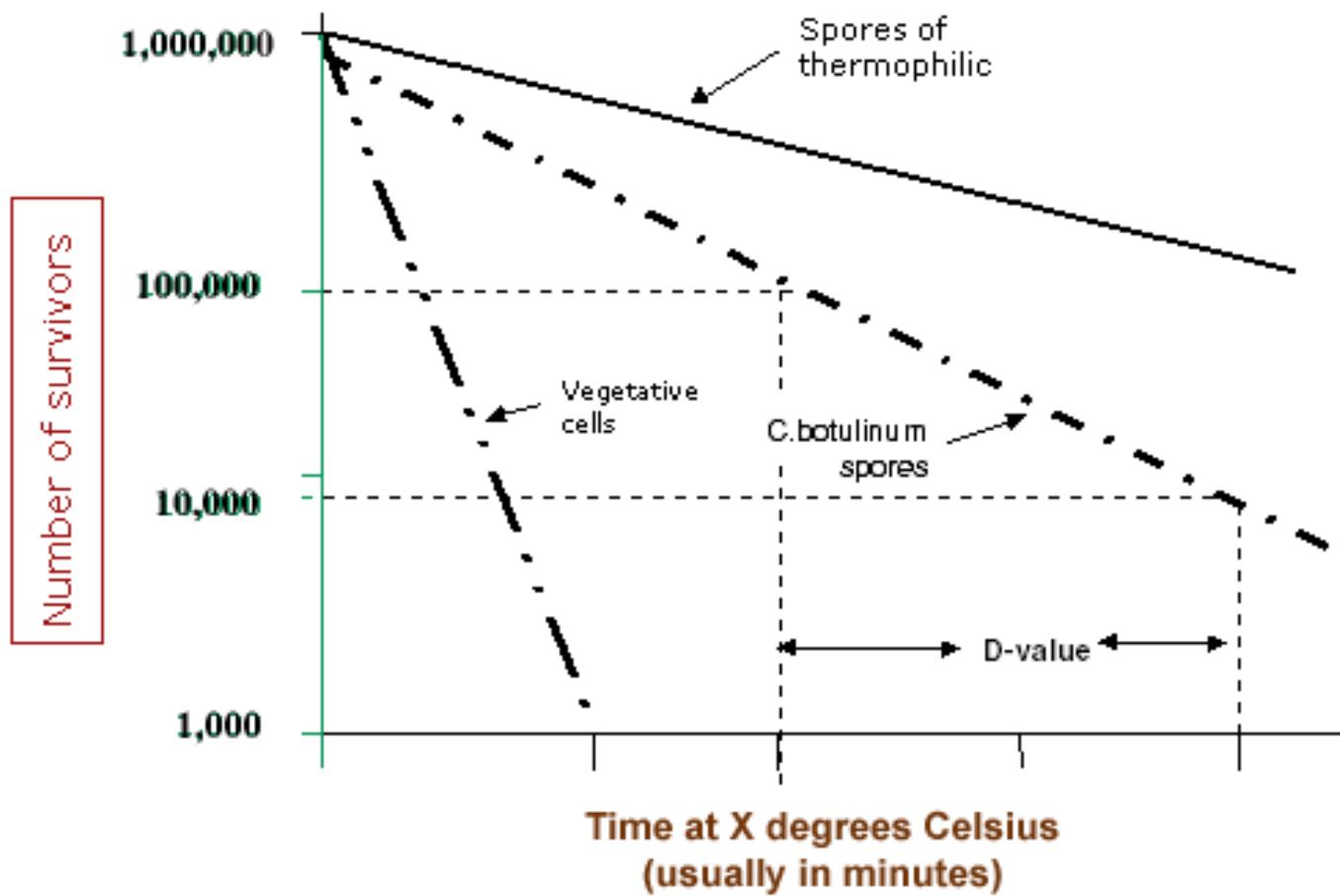
Utilizado:

-na indústria alimentícia

- em laboratórios

-Modo de ação????

Thermal Death Rate Curves



Calor Úmido

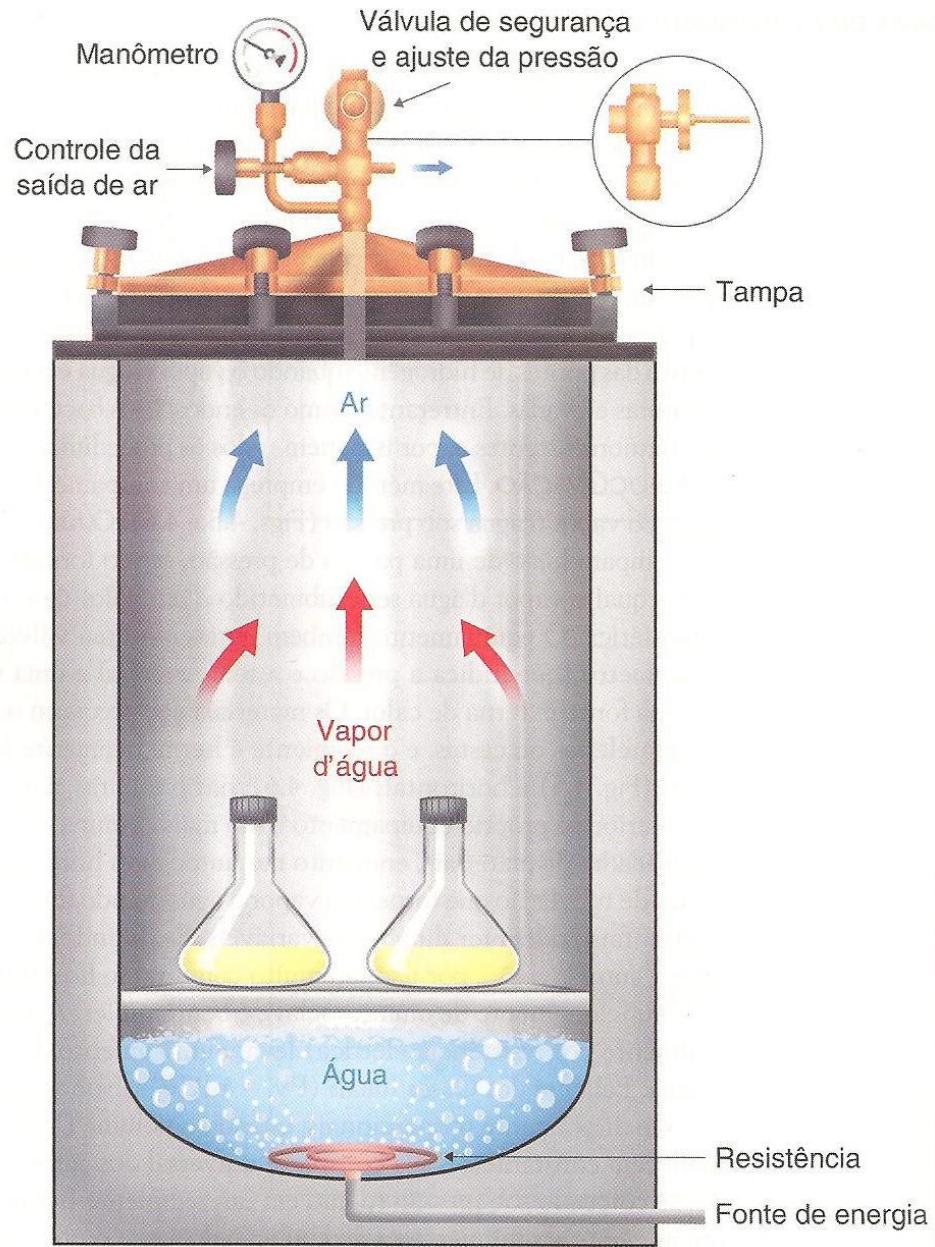
-fervura (100 °C por 15 minutos)



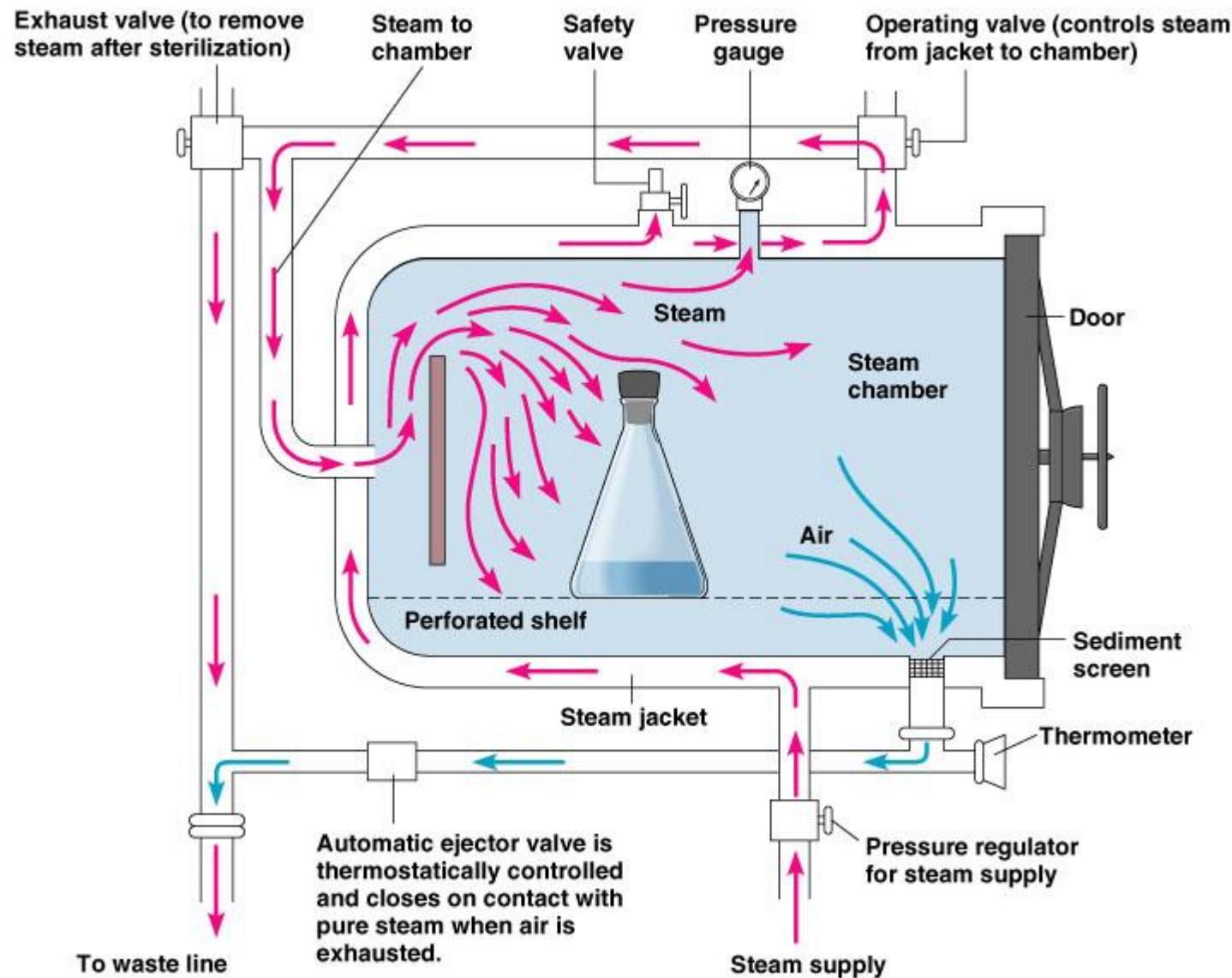
-autoclave (Vapor d'água sob pressão (121 ° C/15 minutos)



O autoclave



O autoclave



Pressure – Temperature Relations in Autoclave
(Figure based on complete replacement of air by steam)

| Pressure in (PSI) | Temperature °C | Temperature °F |
|-------------------|----------------|----------------|
| 5 | 109 | 228 |
| 10 | 115 | 240 |
| 15 | 121 | 250 |
| 20 | 126 | 259 |
| 25 | 130 | 267 |
| 30 | 135 | 275 |

Métodos indicativos de temperatura de autoclave

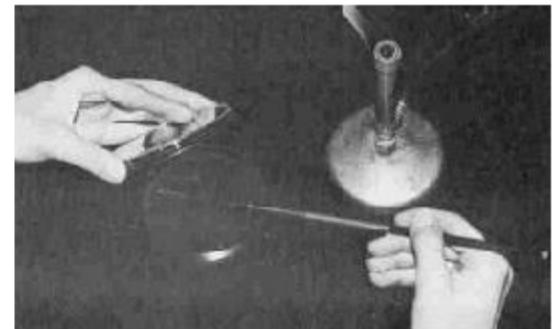
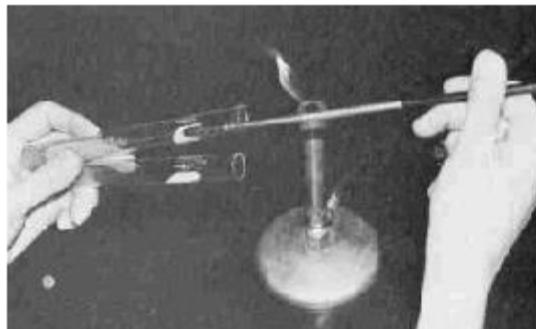
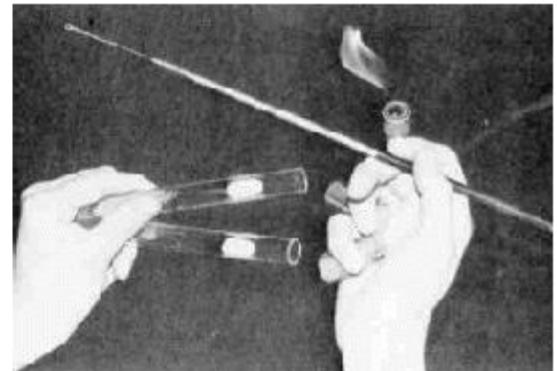
- Uso de pastilhas
- Suspensão de esporos
- Indicativos de cor através de reações químicas



Esterilização por calor seco

- Mata por efeitos de oxidação

Chama direta



Esterilização em ar quente



| ARTIGOS | TEMPO DE EXPOSIÇÃO EM MINUTOS | | |
|--|-------------------------------|-------|-------|
| | 170°C | 160°C | 140°C |
| Frascos, balões e tubos de ensaio | | 60 | |
| Agulhas de sutura | | 60 | |
| Lâminas de corte (bisturi, tesouras, serras etc.) | | 60 | |
| Vaselina líquida e óleos em geral (em camadas de 0,5 cm de altura) | 60 | 120 | |
| Gaze vaselina (20 unidades em cada caixa - 4cm de espessura) | | 150 | |
| Óxido de zinco (camadas de 0,5cm de altura) | | 120 | |
| Sulfas (camadas de 0,5cm de altura) | 60 | 120 | 180 |

Calor seco

Forno de esterilização:

- ✓ oxidação de componentes orgânicos;
- ✓ esterilização (170°C – 2 horas);
- ✓ instrumentos cirúrgicos.



Calor seco

Incineração:

- ✓ queima dos microorganismos até se tornarem cinzas;
- ✓ esterilização;
- ✓ lixo hospitalar, animais de experimentação.

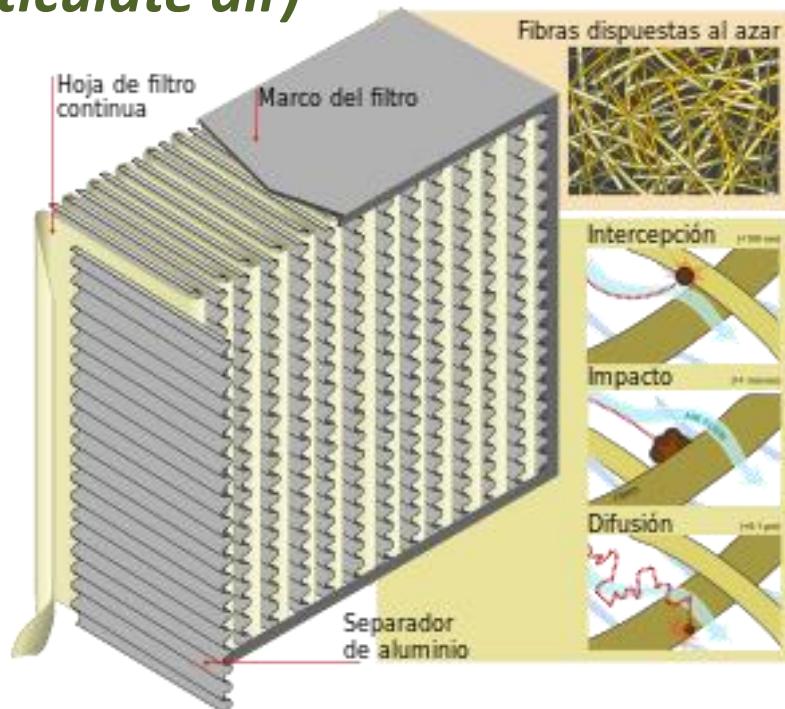


Adaptado de:
www.cibg.rj.gov.br/detalhenoticias.asp?codnot

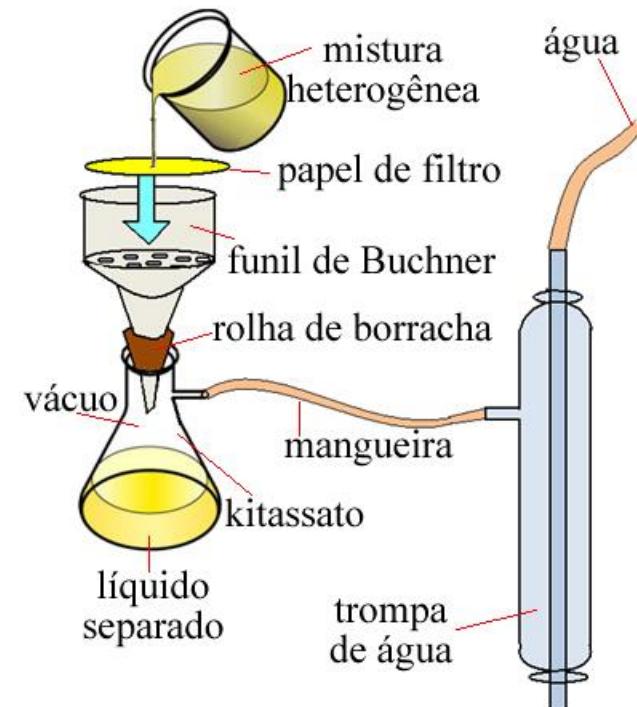
Filtração

- Passagem de um líquido ou gás através de um material semelhante a uma tela, suficientemente pequenos para reter microorganismos.
- utilizada para realizar a esterilização de materiais sensíveis ao calor, como por exemplo enzimas.

Filtros HEPA (*high efficiency particulate air*)



Filtros de membranas



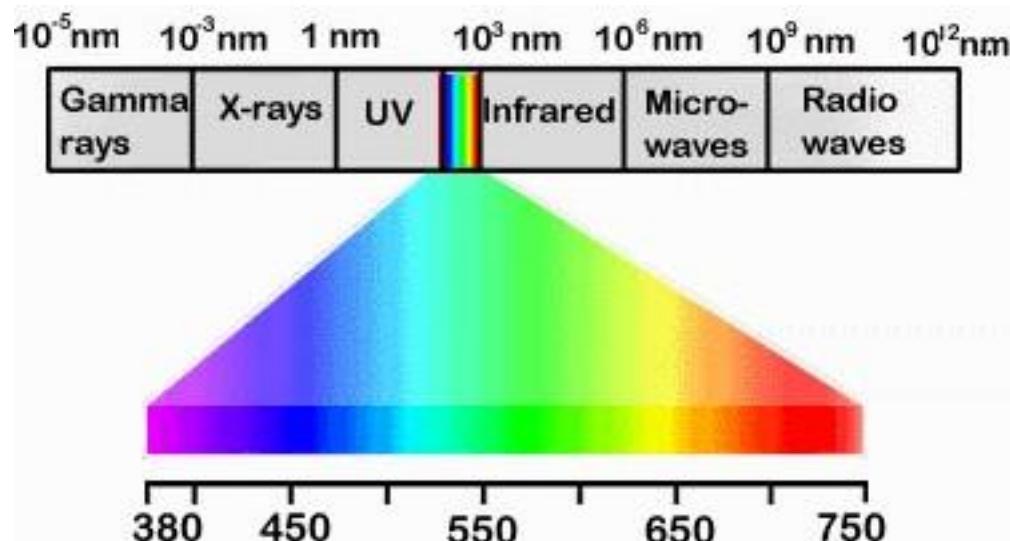
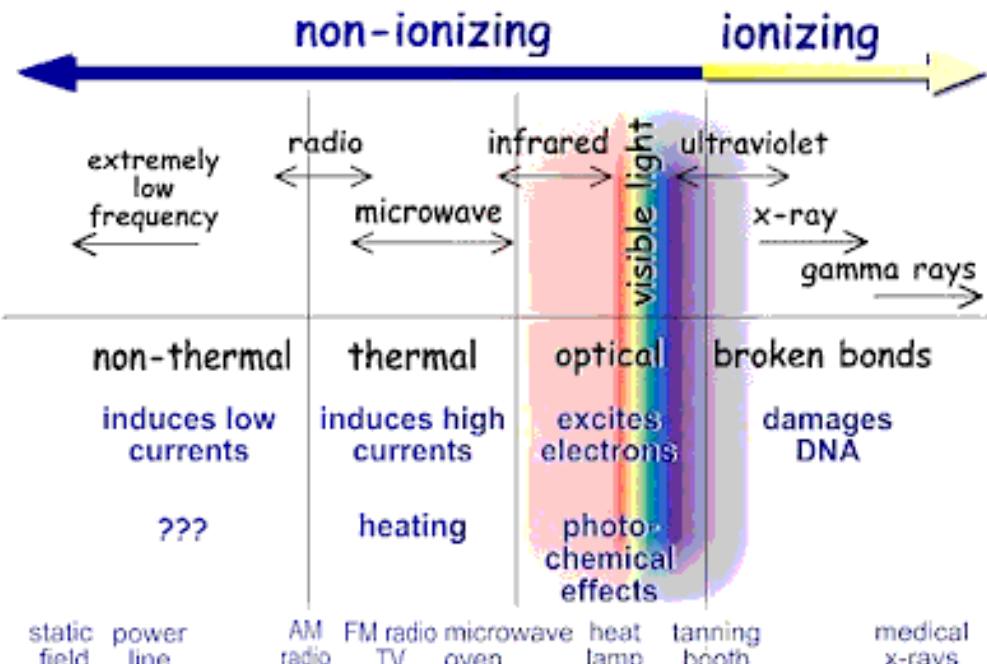
Radiação

★ Ionizante (raio X e γ)

Destroem o DNA

★ Não-ionizantes (UV)

Alteram DNA através
da formação de
dímeros



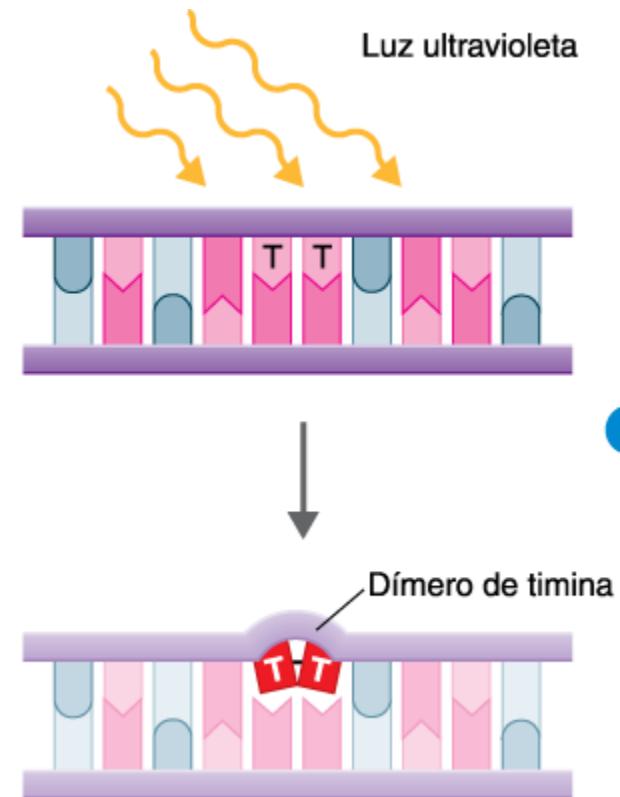
Radiação ionizante (raios gama, X e feixe de elétrons de alta energia)



- Causa a ionização da água formando radicais hidroxilas altamente reativos que causam mutações no DNA ou outras macromoléculas
- Alto poder de penetração
- esterilizante
- Aparelhagem cara e utilizada somente em materiais sensíveis ao calor
 - geralmente materiais já embalados

Radiação não ionizante (luz ultra violeta)

- Causa mutações no DNA pela formação de ligações entre bases pirimidinas adjacentes
- produção de peróxido de hidrogênio
- pouco penetrante – exposição direta



Radiação

| Ionizante | Não-ionizante |
|--|--------------------------------|
| Raios gama e X | Raios UV |
| Destruição DNA | Lesão no DNA |
| Esterilização | Microbiostático ou microbicida |
| Produtos farmacêuticos e suprimentos médicos e odontológicos | Controle de ambiente fechados |

Adaptado de:
www.uvcomparison.com/uvsience.php

Agentes Químicos

Principais grupos:

1. álcoois;
2. compostos fenólicos (fenóis);
3. aldeídos e derivados;
4. halogênios e derivados;
5. biguanidas;
6. agentes de superfície (detergentes);
7. conservantes químicos de alimentos;
8. quimioesterilizantes gasosos (gases);
9. agentes oxidantes (peroxigênios);
10. metais pesados.

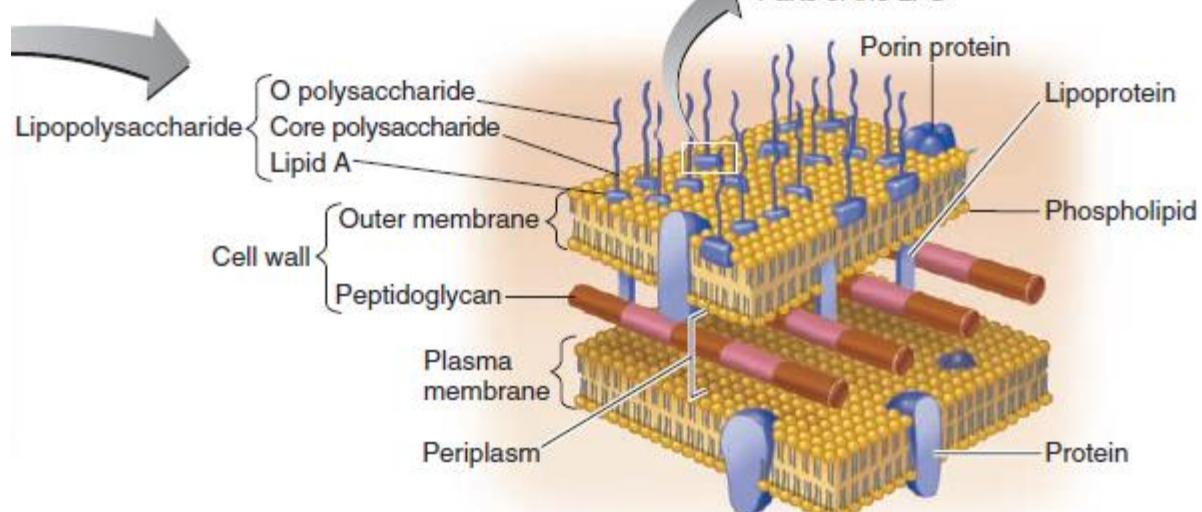
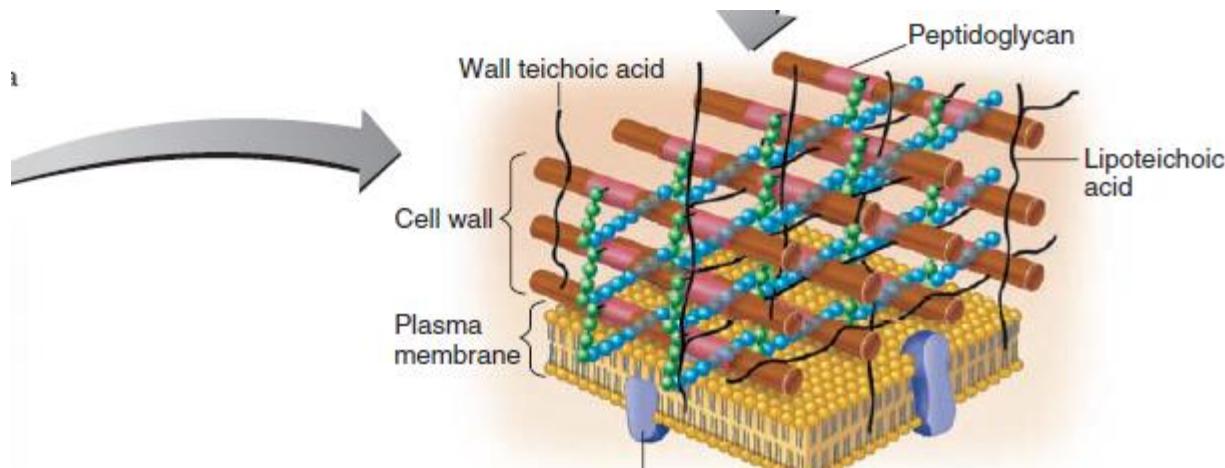
Alvo Dos Agentes Químicos

Parede Celular e membrana:

Alvo: Proteínas/Camada fosfolipídica/ Lipopolisacarídeos/ peptidioglicano

Ação: Afeta a permeabilidade Síntese, rompimento, favorecimento da lise celular

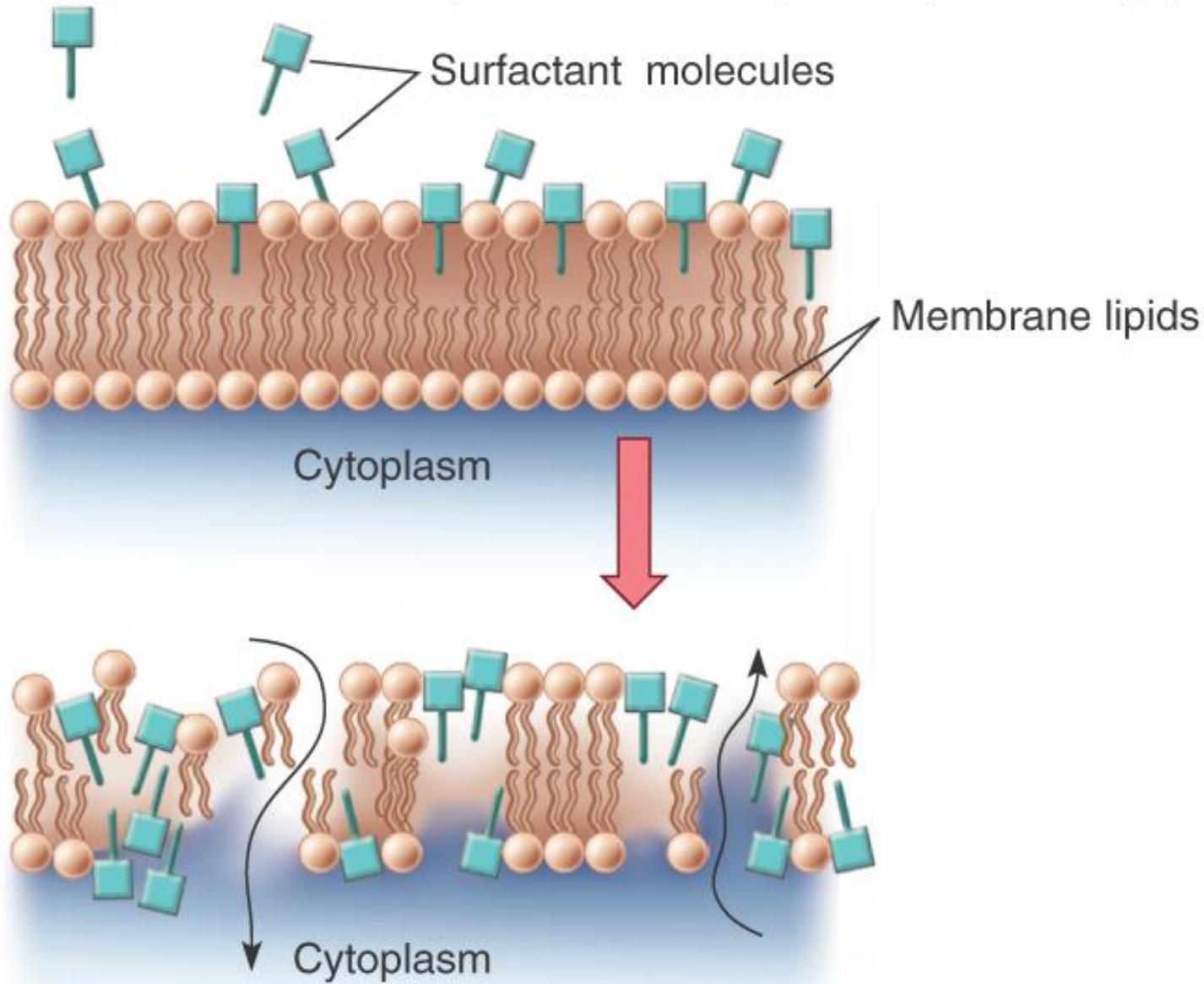
Causa: Afeta o crescimento celular e pode levar a morte.



Alvo Dos Agentes Químicos

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

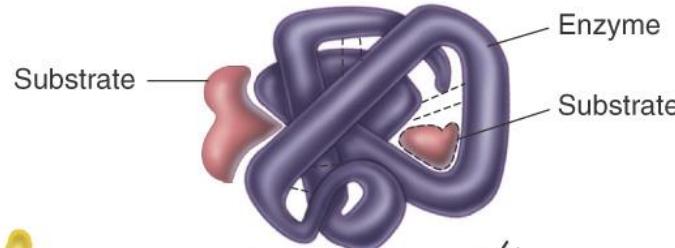
Exemplo:
Surfactantes



Alvo Dos Agentes Químicos

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

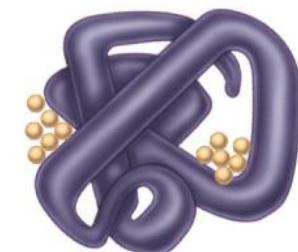
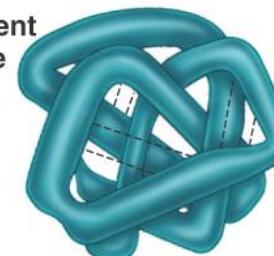
(a) Native State



(b) Complete Denaturation



(c) Different Shape



(d) Blocked Active Site

Active site can no longer accept the substrate, and the enzyme is inactive.

Proteínas

Alvo: Proteínas em Geral

Ação: Romper pontes de hidrogênio, Cross-linking, alquilação, reduzir ou oxidar pontes disulfetos, ...

Causa: Desnaturação de proteínas e/ou inativação
Ex. Enzimas inativas

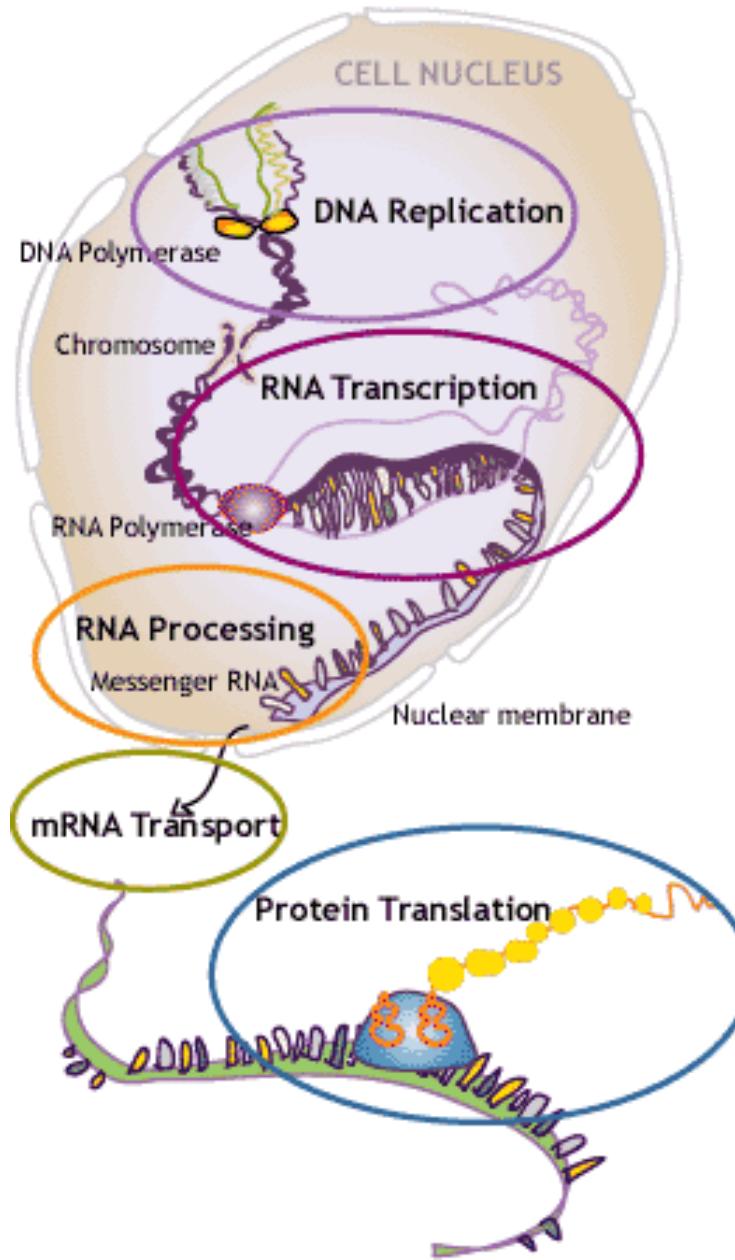
Alvo Dos Agentes Químicos

DNA ou RNA

Alvo: DNA e/ou RNA

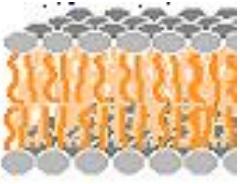
Ação: Ligar covalentemente,
degradar.

Causa: Ligar no ribossomo e
parar a tradução.
Ligar no DNA e inibir a replicação e
Transcrição
Degradar o DNA e/ou RNA



Mecanismos de ação

Alvos letais



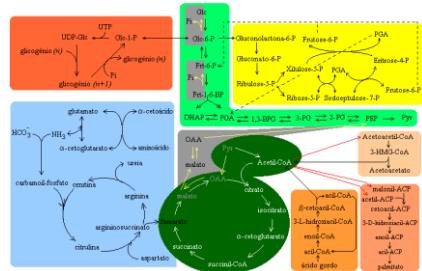
Permeabilidade
da membrana



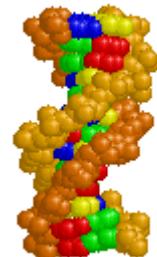
Desnaturação
proteínas

Inibir metabolismo

Inibir síntese de ác. nucleicos

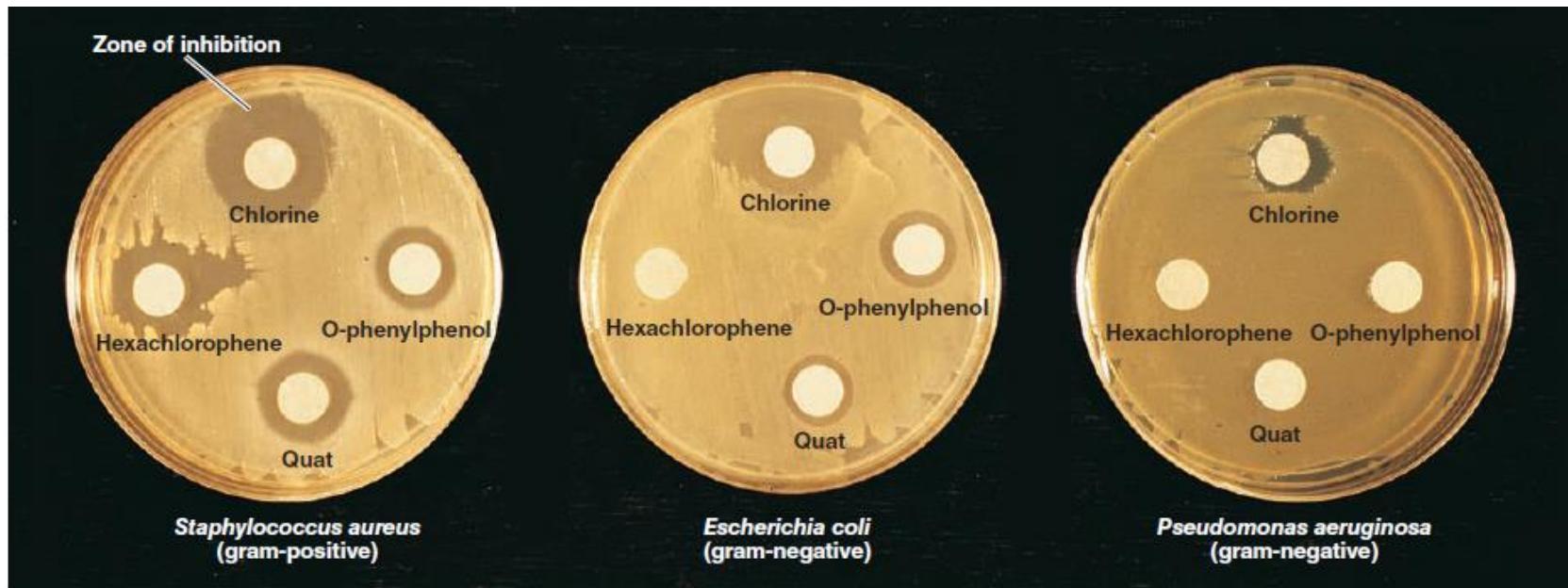


Oxidação

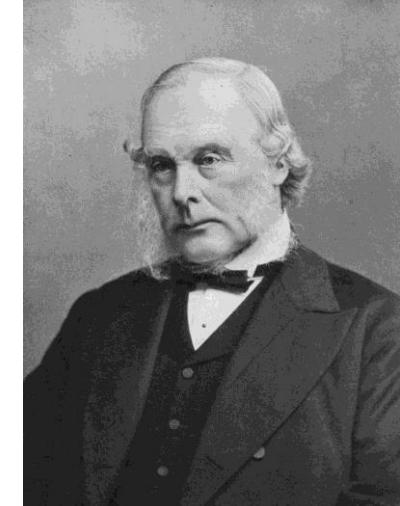


Métodos químicos de controle microbiano

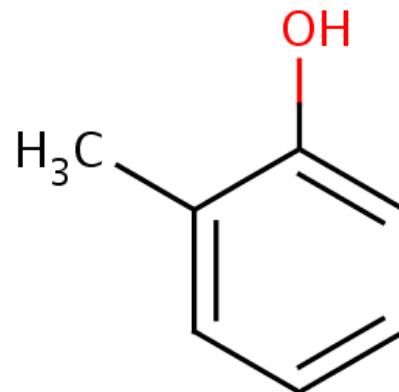
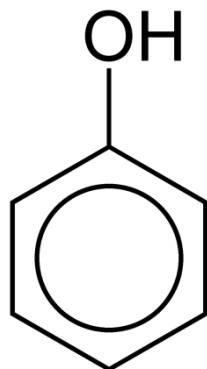
- São utilizados tanto para controlar o crescimento de microrganismos em ambos os tecidos vivos ou objetos inanimados
- Poucas substâncias tem ação esterelizante e apenas reduz o número de microrganismos
- A atividade de uma substância pode ser testada pelos métodos de uso-diluição ou de disco-difusão



Tipos de desinfetantes



Fenol e compostos fenólicos



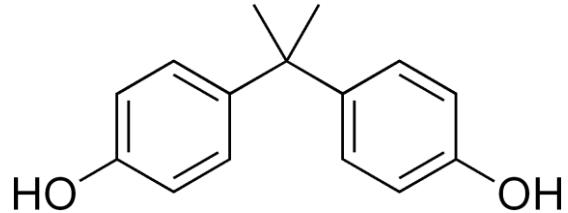
Sr Joseph Lister, 1827-1912



Fenol e Fenólicos

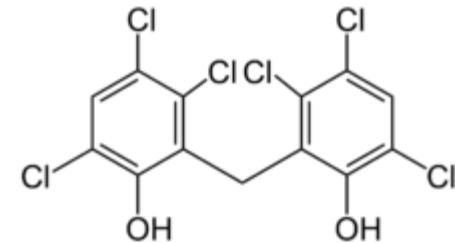
- Usado no controle de infecção em mesas cirúrgicas
- 1% fenol tem ação antibacteriano forte
- Age na Membrana plasmática – ocasionando o vasamento do centeúdo celular – Morte celular.
- Estável e não afetado por compostos orgânicos
 - Desinfecção de pus, saliva, feses.
- Raramente usado como antiséptico ou desinfectante
 - Irritante para a pele
 - Odor

Bisfenóis



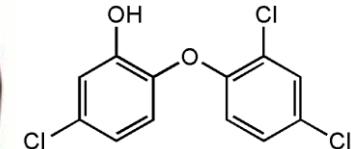
pHsiHex

- Utilizado em ambiente hospitalar e berçários
- Bem ativo contra estafilococos e estreptococos

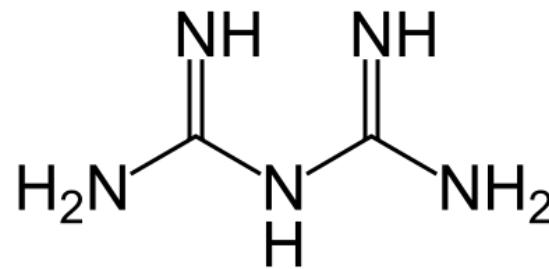


Triclosano

- Usado desde a sabonetes a cabos de faca
- Inibe enzimas da biossíntese de ácido graxos
- Eficaz contra gram+ e menos eficaz contra gram – e fungos



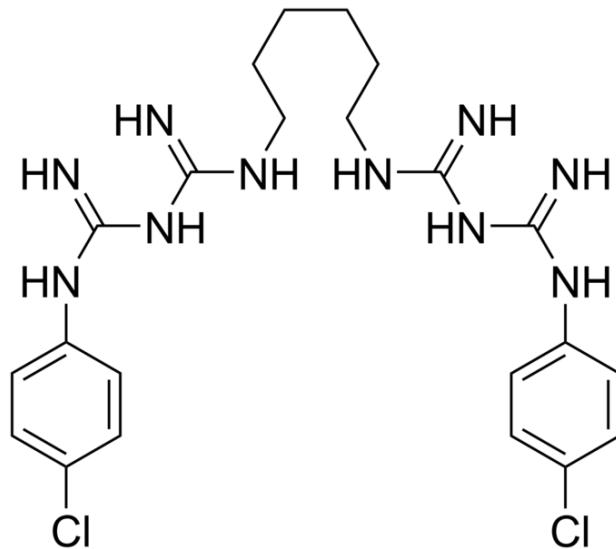
Biguanidas



-controle microbiano de pele e mucosas

-Em combinação com detergentes e álcool é usada para preparação cirúrgica

-O seu efeito é causado devido a lesão na membrana plasmática, desnaturação proteíca e inibição do metabolismo



Halogênios (iodo e cloro)

| Halógeno | Molécula | Estructura | Modelo | $d(X-X) / \text{pm}$ (fase gaseosa) | $d(X-X) / \text{pm}$ (fase sólida) |
|----------|---------------|---------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| Flúor | F_2 | $\text{F}-\text{F}$ 143 pm |  | 143 | 149 |
| Cloro | Cl_2 | $\text{Cl}-\text{Cl}$ 199 pm |  | 199 | 198 |
| Bromo | Br_2 | $\text{Br}-\text{Br}$ 228 pm |  | 228 | 227 |
| Yodo | I_2 | $\text{I}-\text{I}$ 266 pm |  | 266 | 272 |

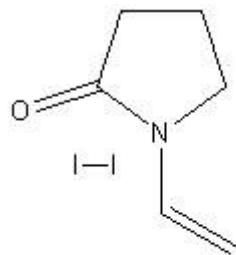
- Alta Eletronegatividade: Rouba e^- , principalmente o flúor
- Agentes Oxidantes

Iodo

-disponível na forma de tinturas – solução de álcool aquoso

-geralmente como iodóforo – combinação de iodo e molécula orgânica

usado para tratamento de feridas

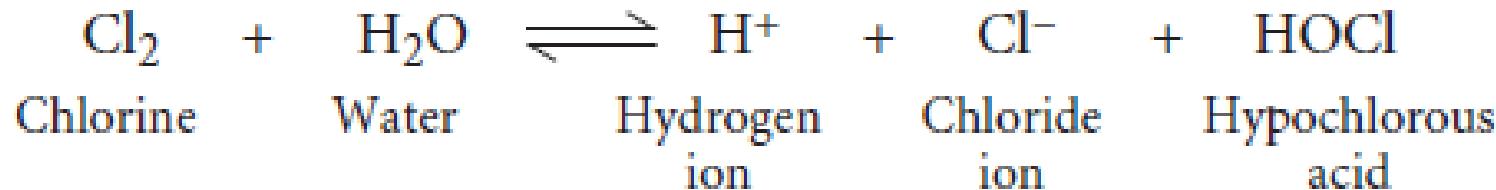


betadine
(povidone iodine complex)
 $C_6H_9I_2NO$

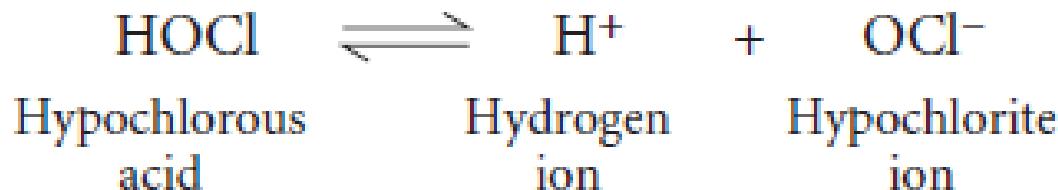


Cloro

(1)



(2)



- atua como agente oxidante impedindo a maquinaria celular
- Formas gasosas também podem ser usadas como o dióxido de cloro



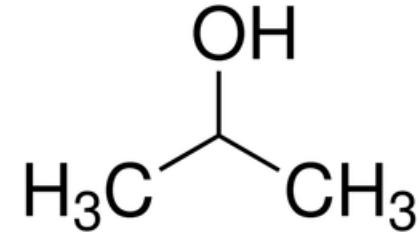
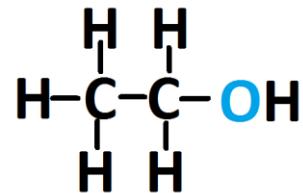
4. Halogênios e derivados

- Particularidades:

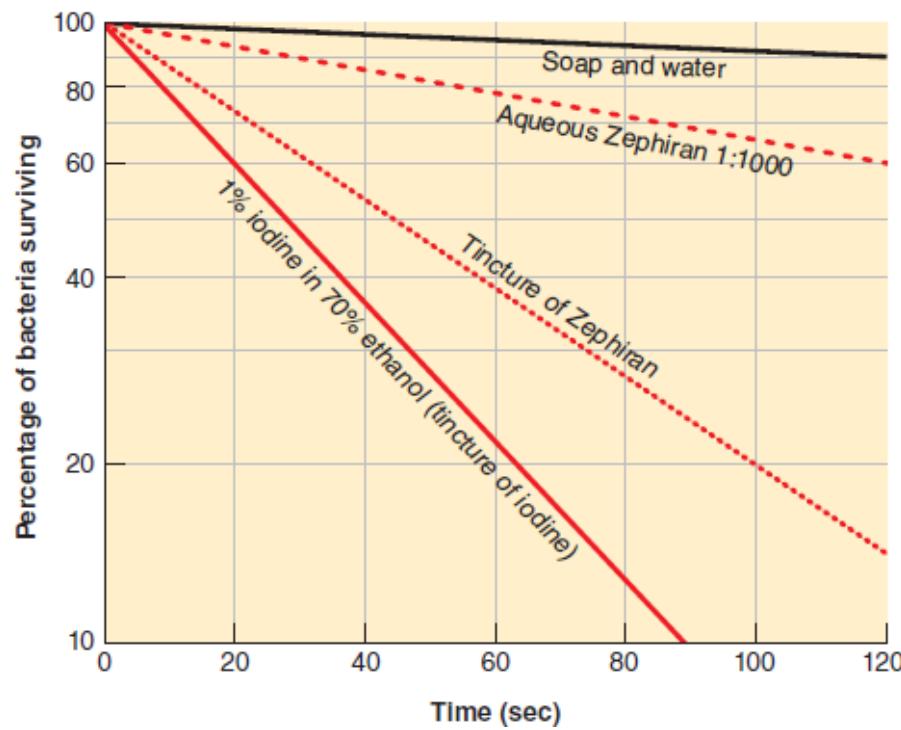
- Cloro e hipocloritos (formulações):

- Gás cloro comprimido (líquido) – desinfecção de água;
 - Hipoclorito de cálcio;
 - Hipoclorito de sódio + bicarbonato de sódio.

Álcoois



- Causa desnaturação de proteínas e rompimento de membranas
- Vantagem de evaporação
- não devem ser aplicados em feridas
- mais utilizados etanol e isopropanol
- álcool puro é pouco efetivo
- não mata endosporos
- também são usados para aumentar a eficiência de outros agentes químicos



Ação de diferentes concentrações de álcool

Biocidal Action of Various Concentrations
of Ethanol in Aqueous Solution against

TABLE 7.6 *Streptococcus pyogenes*

| Concentration of Ethanol (%) | Time of Exposure (sec) | | | | |
|---------------------------------|------------------------|----|----|----|----|
| | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100 | G | G | G | G | G |
| 95 | NG | NG | NG | NG | NG |
| 90 | NG | NG | NG | NG | NG |
| 80 | NG | NG | NG | NG | NG |
| 70 | NG | NG | NG | NG | NG |
| 60 | NG | NG | NG | NG | NG |
| 50 | G | G | NG | NG | NG |
| 40 | G | G | G | G | G |

Note:
G = growth
NG = no growth

Fixa a Bactéria – Atua apenas
na Membrana Externa

Metais pesados e seus compostos

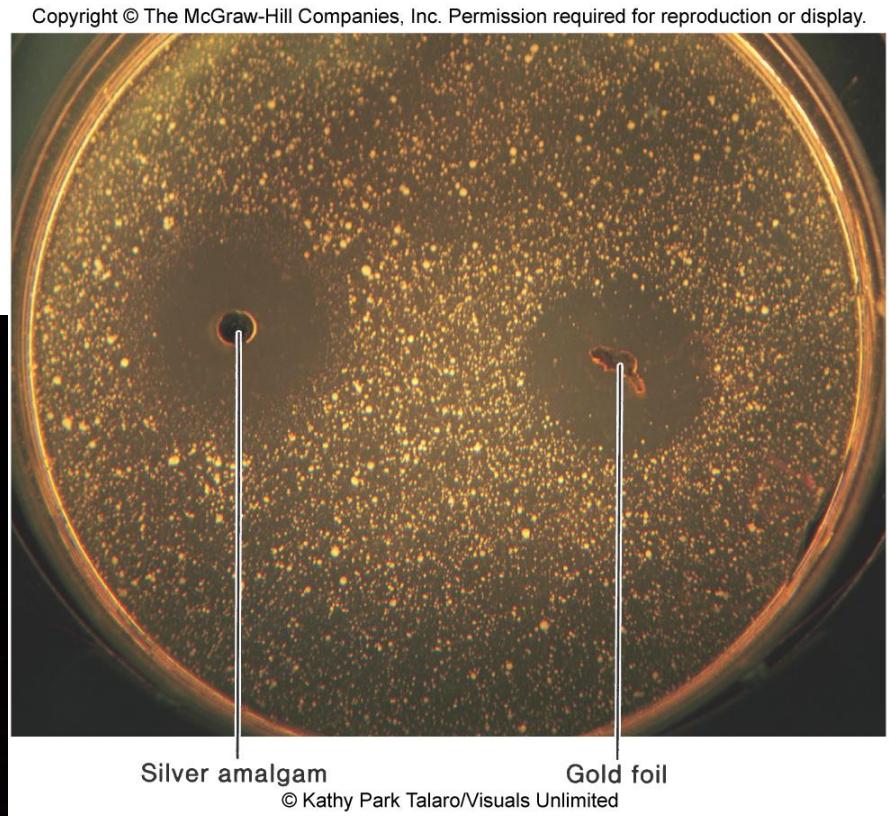
Prata

Geralmente o efeito se da por ação oligodinâmica

Mercúrio

Cobre

Zinco – comum em soluções para bocheço



Agentes de superfície

- sabões e detergentes
- pouco valor como anti-séptico e função importante na remoção mecânica
- emulsifica as secreções oleosas da pele facilitando a remoção de microrganismos
- Pode romper a membrana plasmática



Sabões

Agentes surfactantes - diminuem tensão superficial - contribuem para umidificação e solubilização de substâncias

Sabões cosméticos: maioria não possui atividade antimicrobiana

Modo de ação geral:

Removem mecanicamente os microrganismos

Emulsionam a camada de lipídios da pele
(muitos microrganismos estão retidos)

Os microrganismos são removidos pela água



Detergentes

Aniônicos:

grupos carregados negativamente na molécula. São utilizados em lavanderias.



Modo de ação:

semelhante aos sabões e alguns lisam pneumococos e atuam contra alguns vírus com envelope lipídico. Não são considerados desinfetantes.

Detergentes

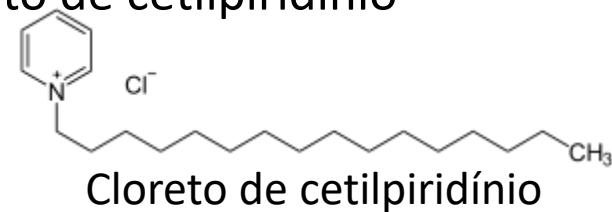


Catiônicos CQA

grupos carregados positivamente

- compostos quaternários de amônio: moléculas contém, no mínimo, 12 átomos de carbono, ligados ao íon amônio, os **quats**
- **Mecanismo de ação:** lise da membrana citoplasmática e desnaturação de proteínas

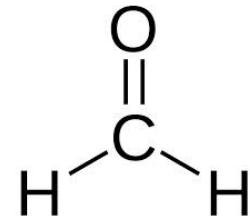
Ex.: cloreto de benzetônio, cloreto de benzalcônio, cloreto de cetilpiridínio (Cepacol).



Pouco tóxico

desinfetantes domésticos e hospitalares e anti-sépticos

Aldeídos

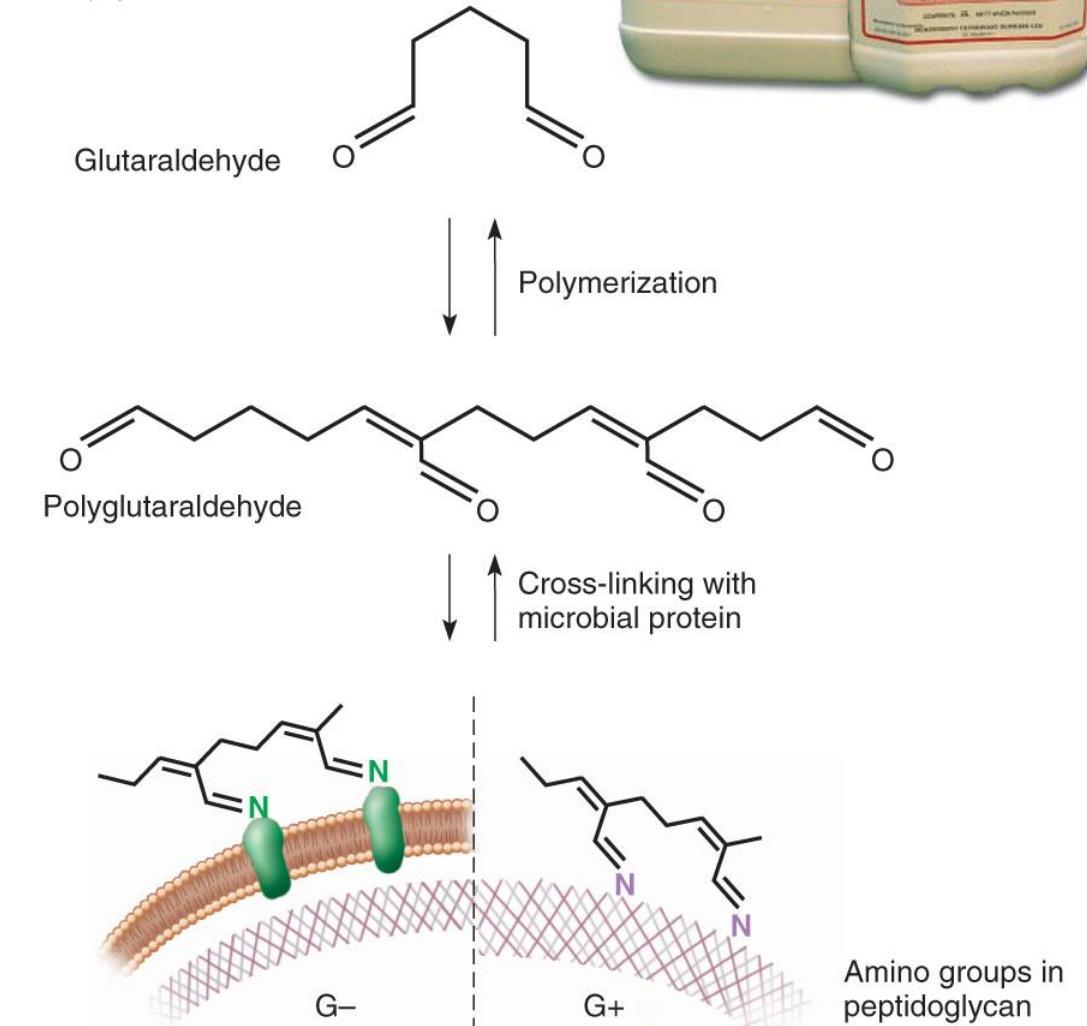


- É um dos mais efetivos
- Inativa Proteínas – Cross-linking

Formaldeído & Glutaraldeído

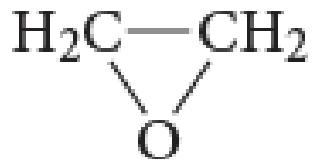
- Formaldeído gás – ótimo desinfetante
- Comum Formalin: 37% formaldeído

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Per



Gases Quimio-esterilizantes

- Esterilizam em câmeras
 - Óxido de Etíleno



Peróxido de hidrogênio esterilizador a plasma - médica
esterilização gabinete

Gás H_2O_2 + radio freqüência ou microondas
= Produz radicais livres

- Ação Bactericida 4-18h:
Desnaturação de Proteínas

- Os hidrogênios lábeis (Cys, D, E, S, Y) são trocados por grupos alquilas ($-\text{CH}_3$)



Utilização eficiente: controle de umidade, temperatura e pressão

50-56° C, umidade de 40%: esteriliza em 3-4 horas

temperatura e umidade ambientes (25° C; 60-70%): até
30 horas

- utilizado em programas espaciais



Mecanismo de ação: inativação de enzimas, proteínas e ácidos nucléicos que possuem átomos de hidrogênio lábeis:

Grupos carboxil (COOH)

Grupos sulfidrila (SH)

Grupos amino (NH₂)

Grupos hidroxil (OH)



Óxido de etileno

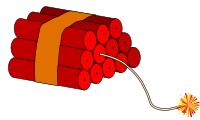
Gás → vapes
irritantes para mucosas

Líquido: abaixo de 12° C



Combinado a :

Oxigênio:



CO₂ e freon:



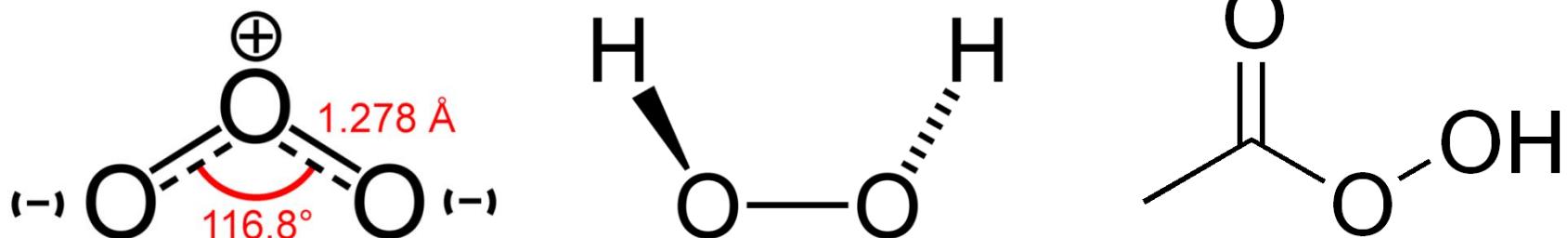
Vantagem: alto poder de penetração

Desvantagem: baixa velocidade de ação



Peroxigênios (agentes oxidantes)

- Agentes Oxidantes:
 - Desnaturação de Proteínas e Morte celular
 - O_3 - Desinfetante
 - H_2O_2 - Antiséptico
 - Ácido Peracético - Esterilizante



SE PASSANDO ALCOOL NAS MÃOS,
VOCÊ FICA IMUNE AS BACTÉRIAS...

