

Controle do Crescimento por Agentes Físicos e Químicos

Taxa de Morte Celular

Afeta a Efetividade do Agente:

- **Tempo de Exposição**
- **Tipo de Microorganismo** (Biofilme, endosporo, Características das Membranas)
- **Concentração do Agente**
- **Presença de outros Compostos Orgânicos, pH e temperatura.**

TABLE 7.2 Microbial Exponential Death Rate: An Example

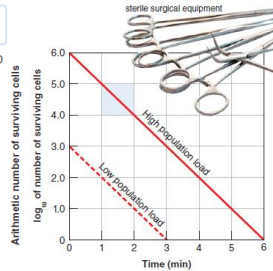
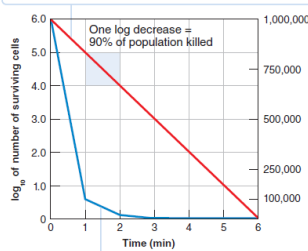
Time (min)	Deaths per Minute	Number of Survivors
0	0	1,000,000
1	900,000	100,000
2	90,000	10,000
3	9,000	1,000
4	900	100
5	90	10
6	9	1

Tempo em Função de Morte Celular

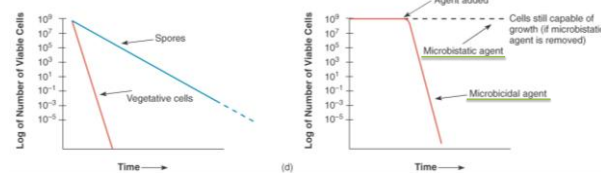
(Concentração do Ag. Químico Constante)

Taxa de Morte Celular

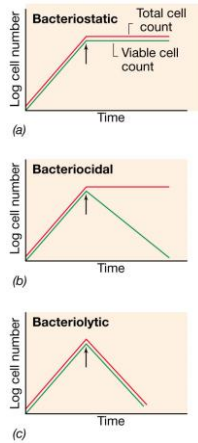
Plotting the typical microbial death curve logarithmically (red line) results in a straight line.



Ação dos Agentes Antimicrobianos



Três tipos de ação de
agentes antimicrobianos



Anti-séptico: agente antimicrobiano
suficientemente atóxico para ser aplicado
em tecidos vivos

CMI: concentração mínima inibitória

Desinfecção: processo de eliminação de
praticamente todos os patógenos.

Desinfetante: agente antimicrobiano
usado em objetos inanimados

Esterilização: processo de remoção
ou morte de todos os organismos
vivos e vírus.

Sepsia/séptico: contaminação
bacteriana

Assépsia: sem contaminação

Septicemia: estado infeccioso
generalizado

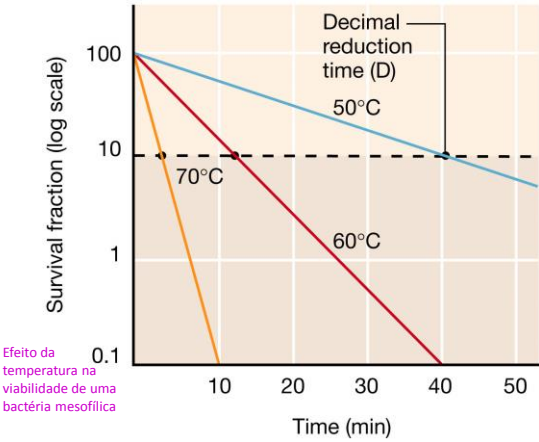
Esterilização é o processo que promove
completa eliminação ou destruição de
todas as formas de microrganismos
presentes :

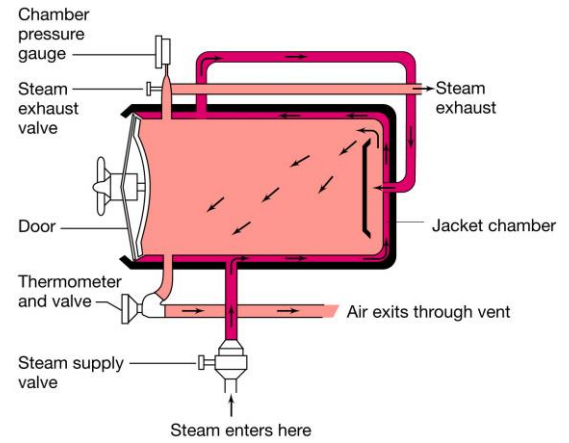
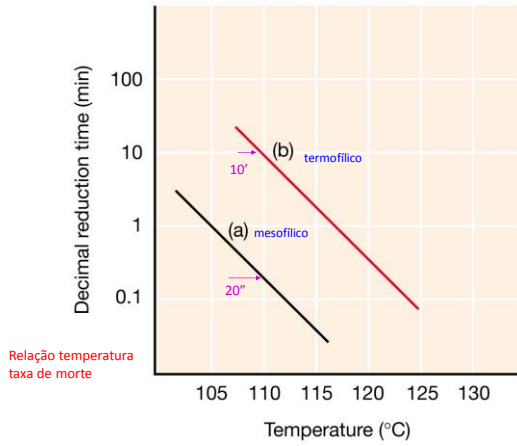
vírus, bactérias, fungos, protozoários,
esporos, para um aceitável nível de
segurança.

O processo de esterilização pode ser
físico, químico, físico- químico

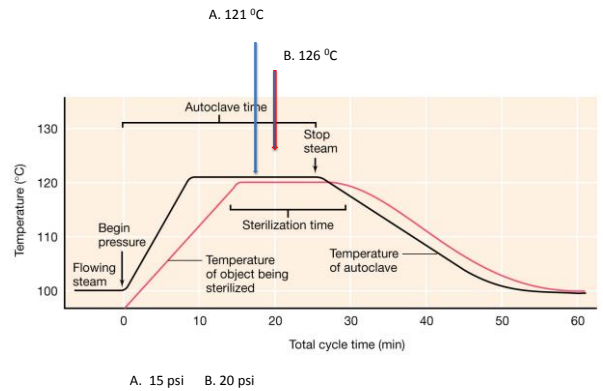
MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO	Alternativas
Métodos físicos	vapor saturado/autoclaves calor seco Raios Gama/Cobalto/UV
Métodos químicos	Glutaraldeído Formaldeído Ácido peracético
Métodos físico químicos	Esterilizadoras a Óxido de Etileno (ETO) Plasma de Peróxido de Hidrogênio Plasma de gases (vapor de ácido peracético e peróxido de hidrogênio; oxigênio, hidrogênio e gás argônio) Vapor de Formaldeído

Esterilização pelo Calor





(c)



MÉTODOS FÍSICOSAutoclavesEstufa

A esterilização por métodos físicos pode ser realizada pelos seguintes processos em estabelecimentos de saúde.

ESTERILIZAÇÃO POR VAPOR SATURADO/ autoclavesgravitacionalalto vácuociclo Flash

A esterilização a vapor é realizada em autoclaves, cujo processo possui fases de remoção do ar, penetração do vapor e secagem. A remoção do ar diferencia os tipos de autoclaves.

Um ciclo de esterilização do tipo "Flash" pode ser realizado em autoclave com qualquer tipo de remoção do ar

TIPOS DE AUTOCLAVE**GRAVITACIONAL**

O vapor é injetado forçando a saída do ar. A fase de secagem é limitada uma vez que não possui capacidade para completa remoção do vapor.

Desvantagem: pode apresentar umidade ao final pela dificuldade de remoção do ar.

As autoclaves verticais são mais indicadas para laboratórios.

Venturi - O ar é removido através de uma bomba. A fase de secagem é limitada uma vez que não possui capacidade para completa remoção do vapor.

Desvantagem: pode apresentar umidade pelas próprias limitações do equipamento de remoção do ar.

ALTO VÁCUO

Introduz vapor na câmara interna sob alta pressão com ambiente em vácuo. É mais seguro que o gravitacional devido a alta capacidade de sucção do ar realizada pela bomba de vácuo.

Vácuo único O ar é removido de uma única vez em pequeno espaço de tempo. Desvantagem: pode haver formação de bolsas de ar.

Vácuo fracionado (por pulso ou escalonado) remoção do ar em períodos intermitentes, com injeção simultânea de vapor. Também funciona por gravidade. A formação de bolsas de ar é menos provável.

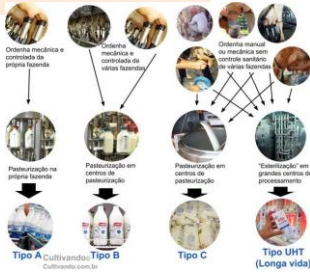
Pasteurização

63 °C por 30 minutos

73 °C por 15 minutos

140 °C por 1 segundo

O leite UHT (Ultra High Temperature), também conhecido como Longa Vida, é obtido pelo processo de Temperatura Ultra Alta de Pasteurização. O Leite é homogeneizado e submetido a uma temperatura de 130 a 150º, entre 2 e 4 segundos, e imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32ºC



Exemplos de parâmetros para esterilização a vapor	Exemplos de tempos mais comuns de exposição

Tipo de autoclave	Temperatura	Tempo do ciclo
Gravitacional	121 a 123º.C 132 a 135º.C	15 a 30 min 10 a 25 min
Pré vácuo	132 a 135º.C 141 a 144º.C	3 a 4 min
Vácuo fracionado	121 a 123º.C 132 a 135º.C 141 a 144º.C	20min 3 a 4 min

Calor Seco. Estufa. Temperatura e tempo

Temperatura	Tempo
171º.C	60 minutos
160º.C	120 minutos
149º.C	150 minutos
141º.C	180 minutos
121º.C	12horas

	Calor seco	Calor transferência rápida
Temperatura	160º.C ou 170º.C	190º.C
Tempo do ciclo	1 a duas horas	12 minutos para pacotes 6 minutos para material não coberto
Tipo de material	•Não deve ser isolante de calor •Deve ser termo resistente a temperatura utilizada •Tubos de polífilme plástico •alguns tipos de papel •Folhas de alumínio	•Não deve ser isolante de calor •Deve ser termo resistente a temperatura utilizada •Tubos de polífilme plástico •alguns tipos de papel •Folhas de alumínio
Vantagens	•Seguro para metais e espelhos (ex.odontologia) •Não danifica instrumentos de corte •Não forma ferrugem	•Menor ciclo •Seguro para metais e espelhos (ex.odontologia) •Não danifica instrumentos de corte •Não forma ferrugem
Desvantagens	•Ciclo longo, exceto se o ar é forçado •Pequena penetração em materiais mais densos •Não esteriliza líquidos •Destroi materiais sensíveis ao calor	•Instrumentos devem estar secos antes de serem empacotados •Não esteriliza líquidos •Destroi materiais sensíveis ao calor

MÉTODOS FÍSICO- QUÍMICOS (BAIXA TEMPERATURA)

- **Óxido de etileno**
- **Plasma de Peróxido de Hidrogênio**
- **Ácido Peracético líquido**
- **Plasma de Ácido peracético**
- **Formaldeído e vapor de formaldeído**

De forma geral os métodos físico- químicos são processos que realizados a baixas temperaturas. A esterilização a baixa temperatura é requerida para materiais termo sensíveis e/ou sensíveis à umidade. O método ideal não existe e todas as tecnologias têm limitações.

Características de um esterilizante ideal para baixa temperatura

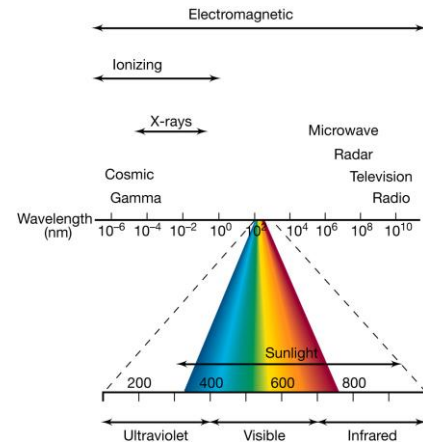
Alta eficácia	deve ser virucida, bactericida, tuberculicida, fungida e esporicida
Ação rápida	esterilizar rapidamente
Grande penetração	penetrar pacotes de materiais comuns e penetrar lumens
Compatibilidade com materiais	as alterações devem ser imperceptíveis tanto na aparência quanto na função dos materiais, mesmo após repetidas esterilizações.
Não tóxico	não devem apresentar riscos à saúde do operador, do paciente e não poluir o ambiente.
Resistente à matéria orgânica	deve ter eficácia na presença de quantidade razoável de matéria orgânica.
Adaptabilidade	deve ser adequada para grandes ou pequenos locais de instalação e ponto de uso.
Capacidade de monitorização	deve ser monitorado de forma fácil e acurada com indicadores físicos, químicos e biológicos.
Custo-efetivo	deve ter custo razoável de instalação e de operação.

Controles químicos	
Externos- indicam que o vapor entrou em contato com a superfície exposta. Devem ser colocadas em todos os pacotes em todos os processos.	- Fitas ou etiquetas adesivas- impregnadas com substância química termosensível específica ao vapor que ao ser retirada da autoclave deverá apresentar mudança de coloração - Impresso- tinta indicativa termosensível impressa diretamente na embalagem que ao ser retirada da autoclave deverá apresentar mudança de coloração.
Interno- indicam que o vapor penetrou o interior da embalagem.	- Tiras de papel - impregnadas com tinta em concentração graduada com substância químicas termosensíveis específicas ao vapor. Ao ser retirada da autoclave deverá apresentar coloração de marrom a preto - Integrador químico- reagente químico liberado gradativamente a medida em que ocorre a combinação dos parâmetros de temperatura, umidade e tempo de exposição. Indicada a colocação em pacotes de difícil acesso do vapor. - Bowie Dick ⁴ - pode ser elaborado com diversas fitas teste sobrepostas cruzadas ou em forma de papel já industrializado, permeável ao vapor com impressão de um desenho característico concêntrico. Sua utilidade é detectar ar residual em autoclaves a vácuo (não se aplica a autoclaves gravitacionais).

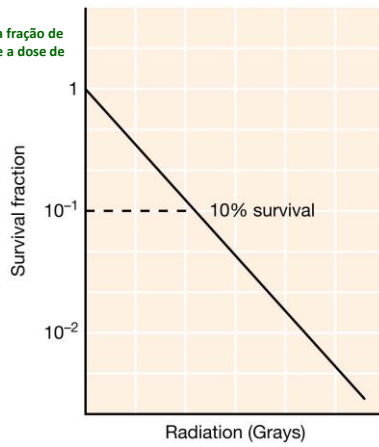
QUAIS E QUANDO UTILIZAR OS DIFERENTES INDICADORES

Controle da carga	Cada carga para Óxido de Etileno, Plasma de Peróxido Diariamente ou semanal para autoclaves a vapor com ciclos maiores (ou definido pela instituição se outros parâmetros estiverem controlados)	Indicador Biológico de Leitura Rápida ou Indicador Biológico Convencional (48h)
Controle do pacote	Cada pacote	Indicador químico multiparamétrico ou integradores químicos
Controle do equipamento	Remoção do ar- no início do dia Após grandes reparos Validação do equipamento Monitorização mecânica- cada carga	Teste de Bowie e Dick Registro dos indicadores mecânicos do equipamento
Controle da exposição	Cada pacote	Fitas indicadoras de processos
Manutenção dos registros	Cada pacote	Livro registro que permita a rastreabilidade do pacote

Esterilização por radiação



Relação entre a fração de sobrevivência e a dose de radiação



Sensibilidade de microrganismos e funções biológicas à radiação

Espécie/ função	Microrganismo	Dao (Gy) grays
<i>Clostridium botulinum</i>	G+, anaérobica, esporulante	3300
<i>Clostridium tetani</i>	G+, anaérobica, esporulante	2400
<i>Bacillus subtilis</i>	G+, aeróbica, esporulante	600
<i>Salmonella typhimurium</i>	G-	200
<i>Lactobacillus brevis</i>	G+	1200
<i>Deinococcus radiodurans</i>	G-	2200
<i>Aspergillus niger</i>	Fungo	500
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Levedura	500
Febre aftosa	virus	13000
Inativação enzimática		20000-50000
Desinfestação insetos		1000-5000

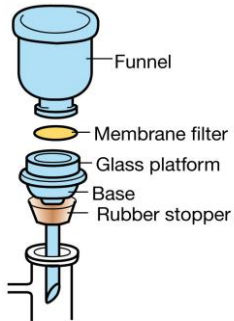
Esterilização por radiação consiste em expor os produtos a uma fonte radioativa de Co-60.

A radiação gamma mata os microrganismos por meio da ruptura da estrutura do seu DNA, não afetando o produto em si.

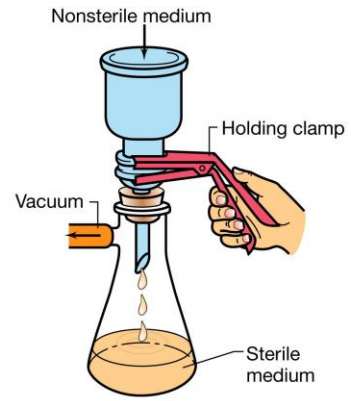
A radiação tem alto poder de penetração na matéria (o seu comprimento de onda é da ordem de 10/8 cm), o processo pode ser executado com os produtos já na sua embalagem final, e pode ser usado imediatamente após o processo.

Item	Consideração
Mecanismo de esterilização	Radiação ionizante - raios gamma
Estrutura do produto	Sem restrições. Os raios gamma penetram em todas as porções do produto. Os irradiadores MDS Nordion são projetados de modo a se ter boa uniformidade de dose no processo.
Materiais	Compatível com a maioria dos materiais utilizados para artigos médico-hospitalares
Embalagem	Sem restrições. O alto poder de penetração da radiação permite a esterilização em qualquer tipo de embalagem. A radiação não exerce danos aos materiais e selos.
Parâmetros a serem controlados durante o processo	Unicamente o tempo.
Confiabilidade e reprodutibilidade do processo	Excelente
Testes microbiológicos pós esterilização	Podem ser eliminados
Período de quarentena	Não há. Os produtos podem ser imediatamente utilizados após a esterilização
Tratamento pós esterilização	Nenhum necessário
Possibilidade de monitoração do processo	Qualitativa e quantitativa, com o uso de selos radiossensíveis e dosímetros calibrados
Resíduos	Nenhum
Economia	Excelente em grandes e pequenas

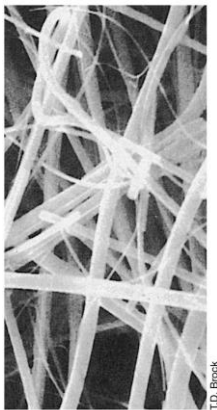
Esterilização por filtração



(a)

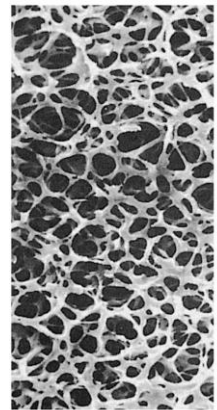


Filtro de profundidade

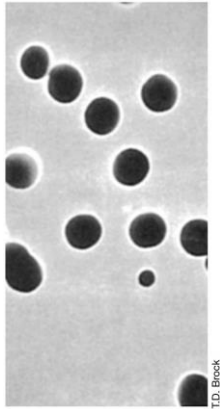


(a)

Membrana filtrante

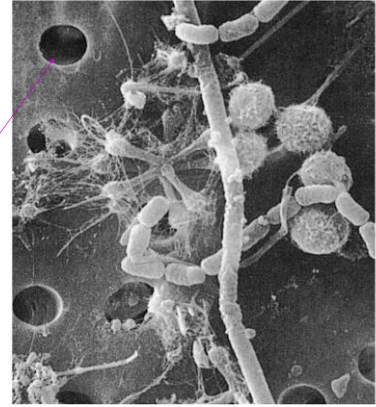


(b)

Filtro
nucleopore

T.D. Brock

(c)

Poros = 5 μm 

Carlos Pedrós-Allo and T. D. Brock

Agentes químicos

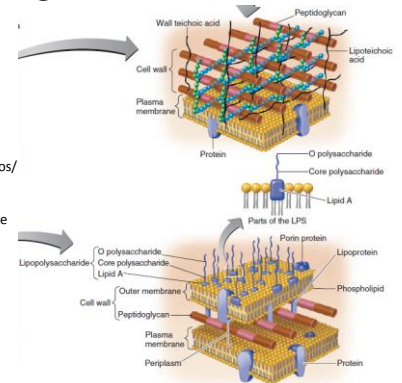
Alvo Dos Agentes Químicos

Parede Celular e membrana:

Alvo: Proteínas/Camada fosfolipídica/ Lipopolissacarídeos/ peptidoglicano

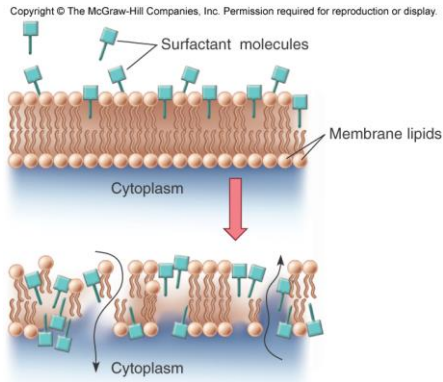
Ação: Afeta a permeabilidade Síntese, rompimento, favorecimento da lise celular

Causa: Afeta o crescimento celular e pode levar a morte. Ex. Pode afetar as purinas.



Alvo Dos Agentes Químicos

Exemplo:
Surfactantes



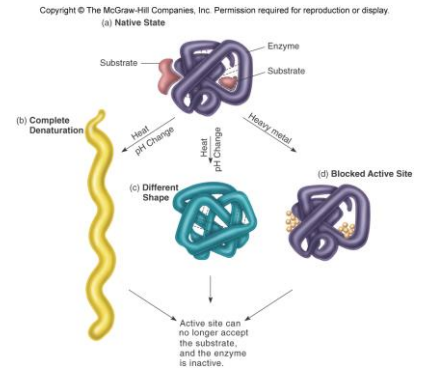
Alvo Dos Agentes Químicos

Proteínas

Alvo: Proteínas em Geral

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

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



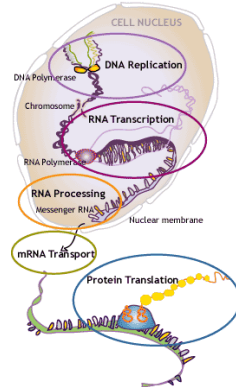
Alvo Dos Agentes Químicos

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



Agente	Uso	Modo de ação
Anti-sépticos Alcool etanol ou isopropanol 60-85%	Pele	Solvente de lipídeos e desnaturante de proteínas
Composto com fenol (hexaclorofeno, triclosan, clorexidina)	Sabões, loções, cosméticos, desodorantes	Rompem a membrana celular
Detergentes catiônicos, quaternários de amônia (cloreto de benzalcônio)	Sabões, loções	Interagem com fosfolipídeos de membrana
Peróxido de hidrogênio 3%	Pele	Agente oxidante
Iodóforos, iodo em solução	Pele	Ionizam resíduos de tirosina das proteínas, oxidantes
Nitrato de prata	Olhos recém-nascidos <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Precipitação proteínas

Desinfetantes e esterilizantes		
Álcool (etanol ou isopropanol 60-85%)	Desinfetante e esterilizantes instrumentos médicos, superfícies	Solvente de lipídeos e desnaturante proteínas
Detergentes catiônicos (quaternários de amônio)	Desinfetante instrumentos médicos e industriais	Interagem com fosfolípidos
Cloro gasoso	Desinfetante redes distribuidoras de água	Agente oxidante
Compostos de cloro (cloraminas, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro)	Desinfetante equipamentos industriais, redes de água	Agente oxidante
Sulfato de cobre	Algicida em piscinas, redes de água	Precipitação proteínas
Óxido de etileno (gás)	Esterilizante de material de laboratório (plásticos)	Agente alquilante
Formaldeído	Sol. 3-8% desinfetante superfícies; 37% (formalina) esterilizante	Agente alquilante

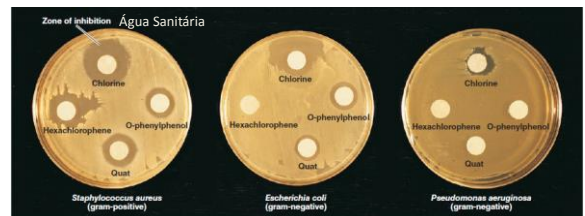
Glutaraldeído	Desinfetante ou esterilizante sol. 2%.	Agente alquilante
Peróxido de hidrogênio	Vapor esterilizante	Agente oxidante
Compostos de iodóforos contendo iodo	Desinfetantes instrumentos médicos e superfícies	Iodinação resíduos de tirosina
Dicloreto mercúrico	Desinfetante superfícies	Combinação com grupos -SH
Ozônio	Desinfetante de água potável	Forte agente oxidante
Ácido peracético	Desinfetante ou esterilizante de alto nível sol. 0.2%	Forte agente oxidante
Compostos fenólicos	Desinfetante superfícies	Desnaturante proteínas

Avaliar o Efeito do Agente Químico.

Teste de Diluição:

Material Complementar
para estudo

Metódo de Difusão do Disco



70% Álcool

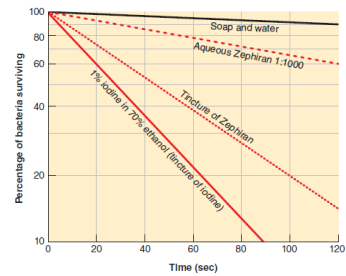
Biocidal Action of Various Concentrations of Ethanol in Aqueous Solution against *Streptococcus pyogenes*

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

Álcool como Sinérgico para outros Agentes Químicos

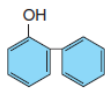


Fenol e Fenólicos



(a) Phenol

Cresol –
Ótimo desinfetante de Superfícies

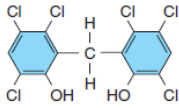


(b) O-phenylphenol

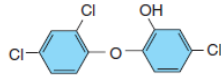
Fenol e Fenólicos

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

Bisfenol



(c) Hexachlorophene (a bisphenol)

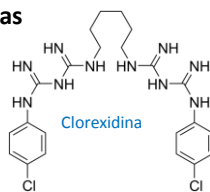
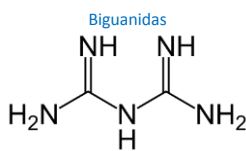


(d) Triclosan (a bisphenol)

Bisfenol - Ação

- Triclosan : Enzima FabI, biossíntese de ácidos graxos (lipídios)
- Afeta a integridade da membrana plasmática
- Ótimo para G+, mas age bem G- e fungos
- *P. aeruginosa* é resistente

Biguanidas



- Ampla Espectro. Mais efetivo G+
- Clorexidina : Usado em mucosa e na pele
 - Clorexidina + Detergente ou álcool: Usado preparação da pele (pre-operatório), lavagem das mãos
- Bactericida: Age na Membrana Plasmática – Morte
- Baixa toxicidade.

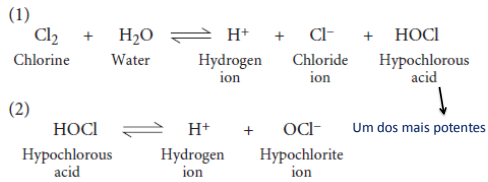
Halógenos

Halógeno	Molécula	Estrutura	Modelo	d(X-X) / pm (fase gasosa)	d(X-X) / pm (fase sólida)
Fluor	F ₂			143	149
Cloro	Cl ₂			199	198
Bromo	Br ₂			228	227
Iodo	I ₂			266	272

- Alta Eletronegatividade: Rouba e⁻, principalmente o fluor
- Agentes Oxidantes

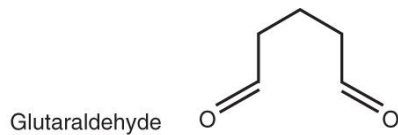
Halógenos

- Iodo, Antisséptico da pele
- Candica - Desinfetante
- Cloro – Seu efeito é na forma $\text{Cl}_{2(g)}$ - Mata endosporos e bactéria do anthrax



Aldeídos

- **Glutaraldeído – Pode ser considerado Agente Esterilizante**
 - Mais efetivo e menos irritante
 - Usado como desinfetante:
 - Instrumentos hospitalares
 - 2% bactericida, tuberculocida e virucida em 10 min, esporocida em 3-10h.

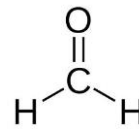


Aldeídos

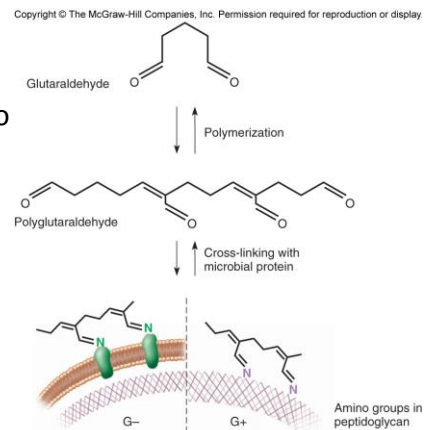
- É um dos mais efetivos
- Inativa Proteínas – Cross-linking

Formaldeído & Glutaraldeído

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



Áção
Glutaraldeído



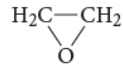
Metais Pesados

- Podem ser Biocidas ou Antisépticos
- Hg (metiolate antigamente)
- Cu
- Ag

Gases Químio-esterilizantes

- Esterilizam em camaras

– Óxido de Etileno



– Ação Bactericida 4-18h:

Desnaturação de Proteínas

- Os hidrogenios labéis (Cys, D, E, S, Y) são trocados por grupos alquilas (-CH₃)

Agentes Oxidantes - Peróxidos

- Agentes Oxidantes:
 - Desnaturação de Proteínas e Morte celular
 - O₃ - Desinfetante
 - H₂O₂ - Antiséptico
 - Ácido Peracético - Esterilizante

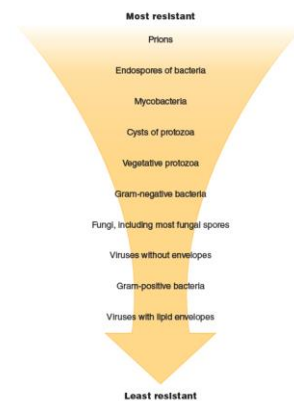
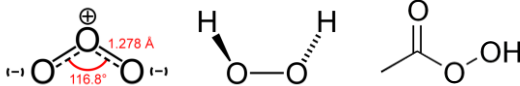


Figure 7.11 Decreasing order of resistance of microorganisms to chemical biocides.