

# Controle Microbiano por Agentes Químicos

**Cristiane R. Guzzo Carvalho**  
**BMM0160- 20/09/2018**

# Agentes Químicos no Crescimento Microbiano

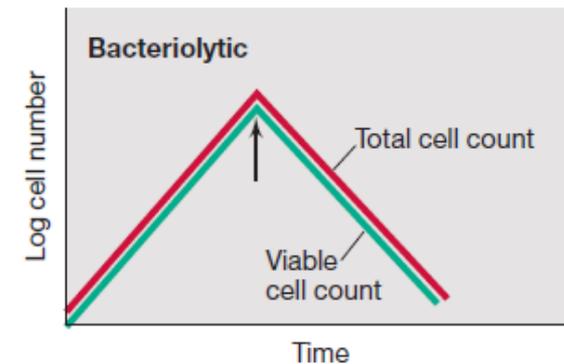
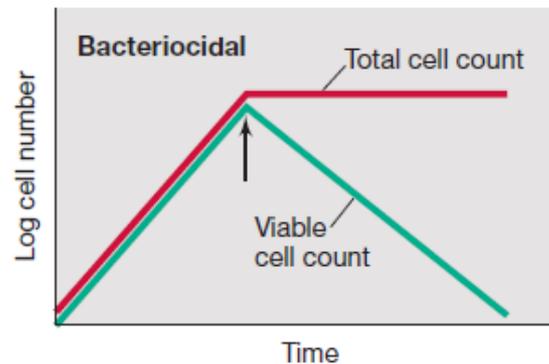
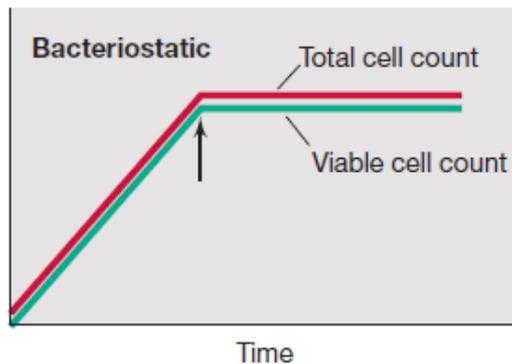
## Compostos Químicos

1° Categoria

Utilizados em Industriais e Ambientes Comerciais

2° Categoria

Impedir Patógenos Humanos em Ambientes Inanimados & Superfícies Corporais



# Taxa de Morte Celular

Afeta a Efetividade do Ag. Químico:

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

**Microbial Exponential Death Rate:**

**TABLE 7.2 An Example**

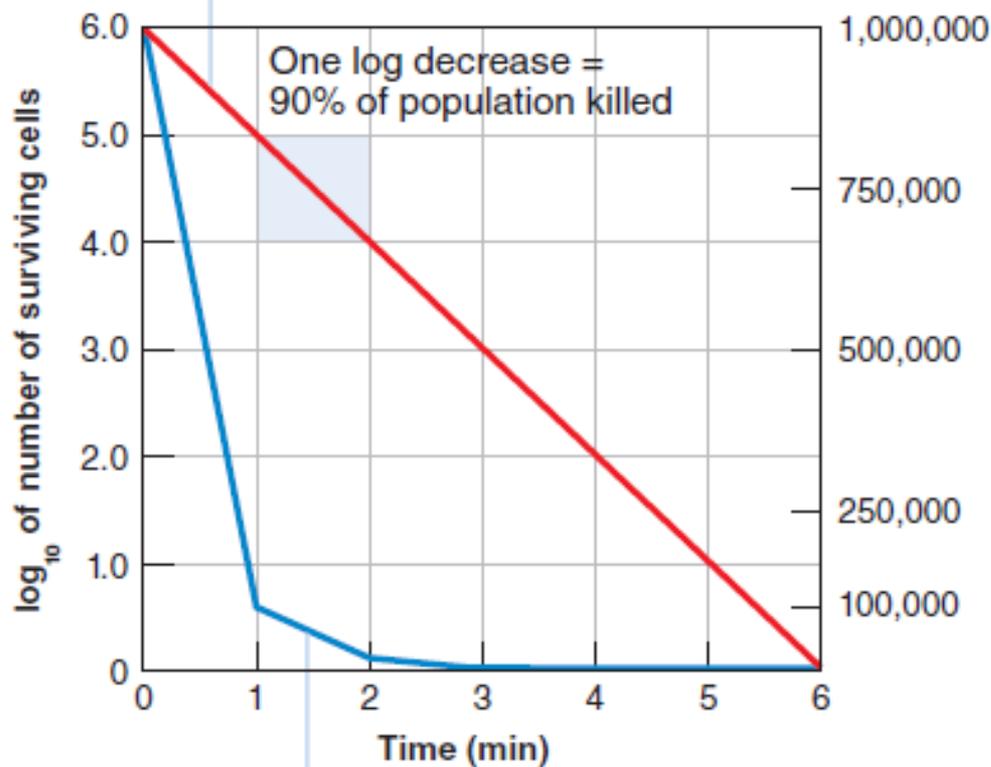
Time (min)	Deaths per Minute	Number of Survivors
0	0	1,000,000
1	900,000	100,000
2	90,000	10,000
3	9,000	1,000
4	900	100
5	90	10
6	9	1

Tempo em Função  
de Morte Celular

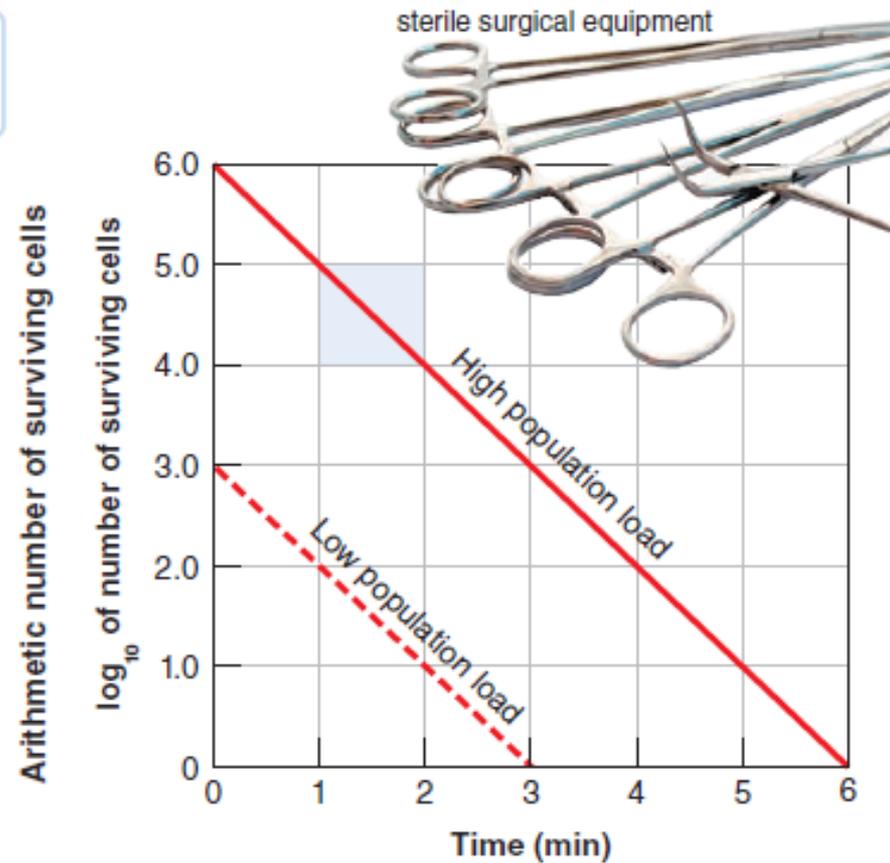
(Concentração do  
Ag, Químico  
Constante)

# Taxa de Morte Celular

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

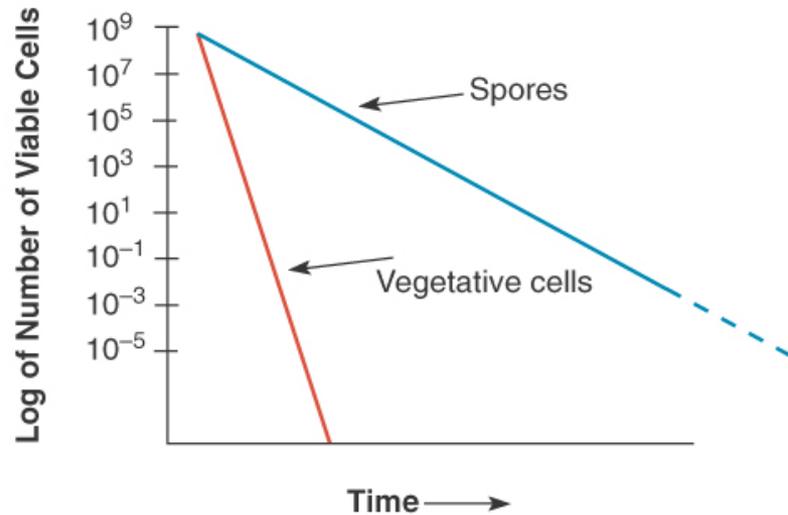


## Efeito da População



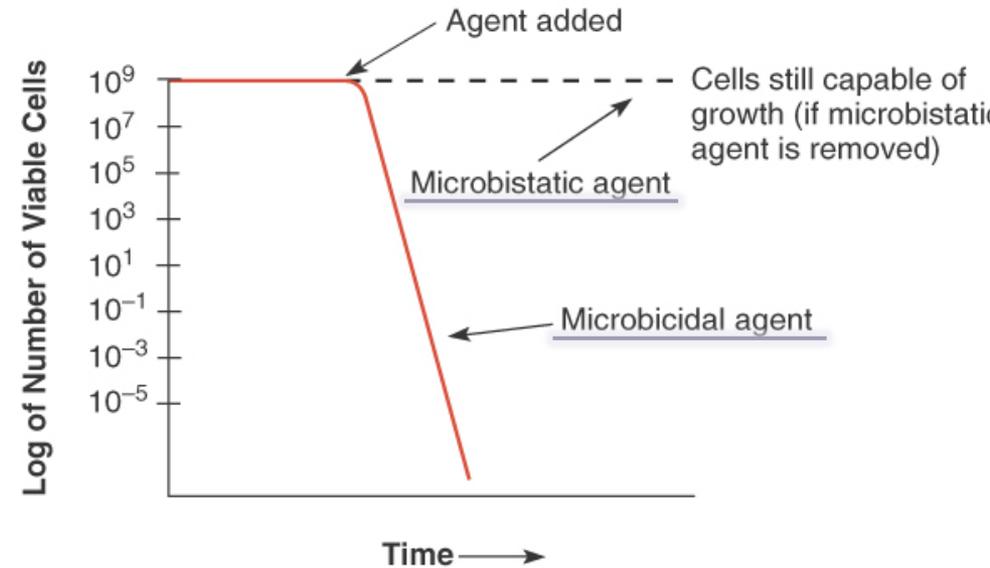
# Ação dos Agentes Antimicrobianos

## Células Vegetativa & Esporos



(d)

## Efeito Bactericida & Bacteriostático



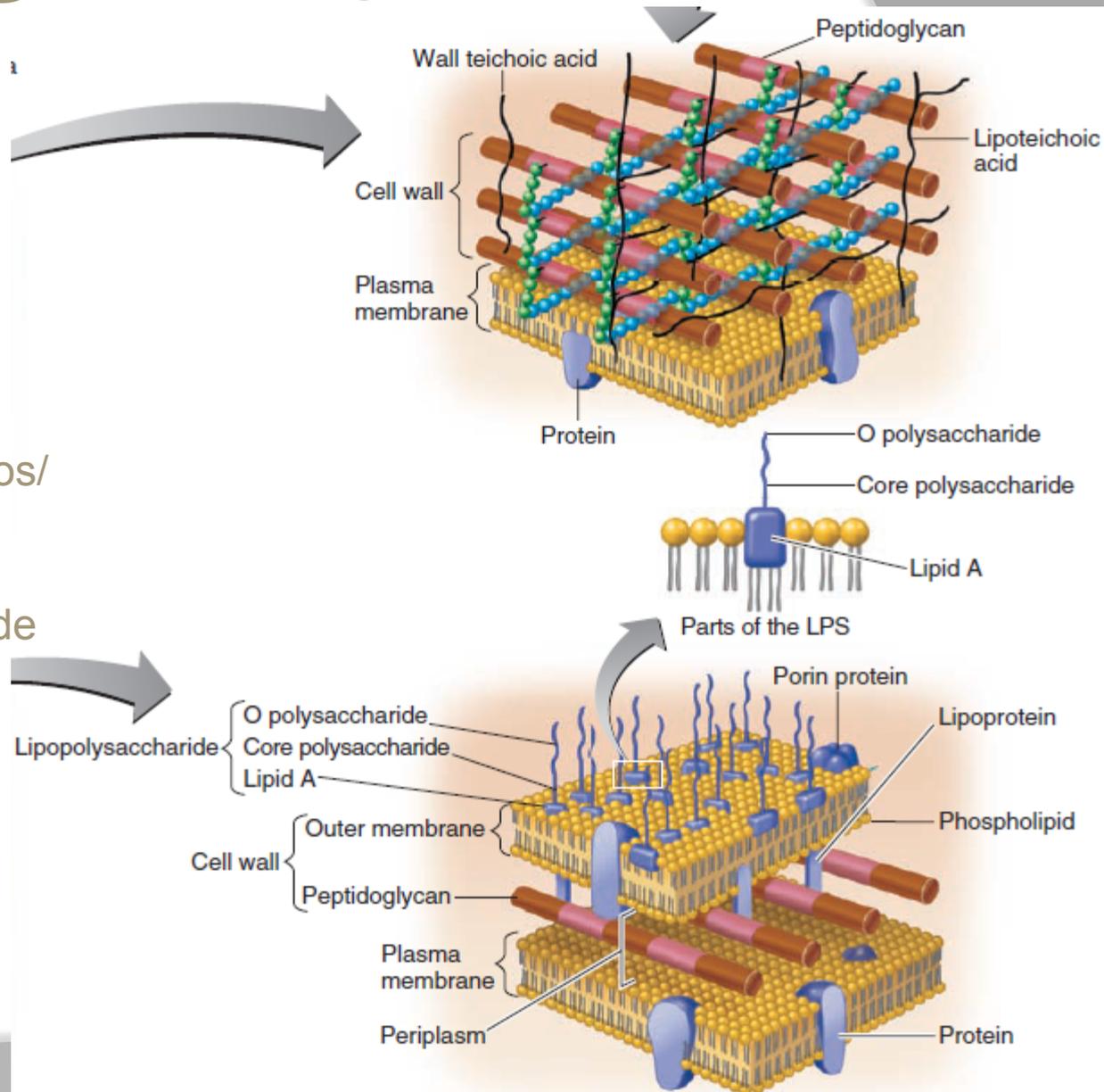
# Alvo Dos Agentes Químicos

## Parede Celular e membrana:

**Alvo:** Proteínas/Camada fosfolipídica/ Lipopolisacarídeos/ peptidoglicano

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

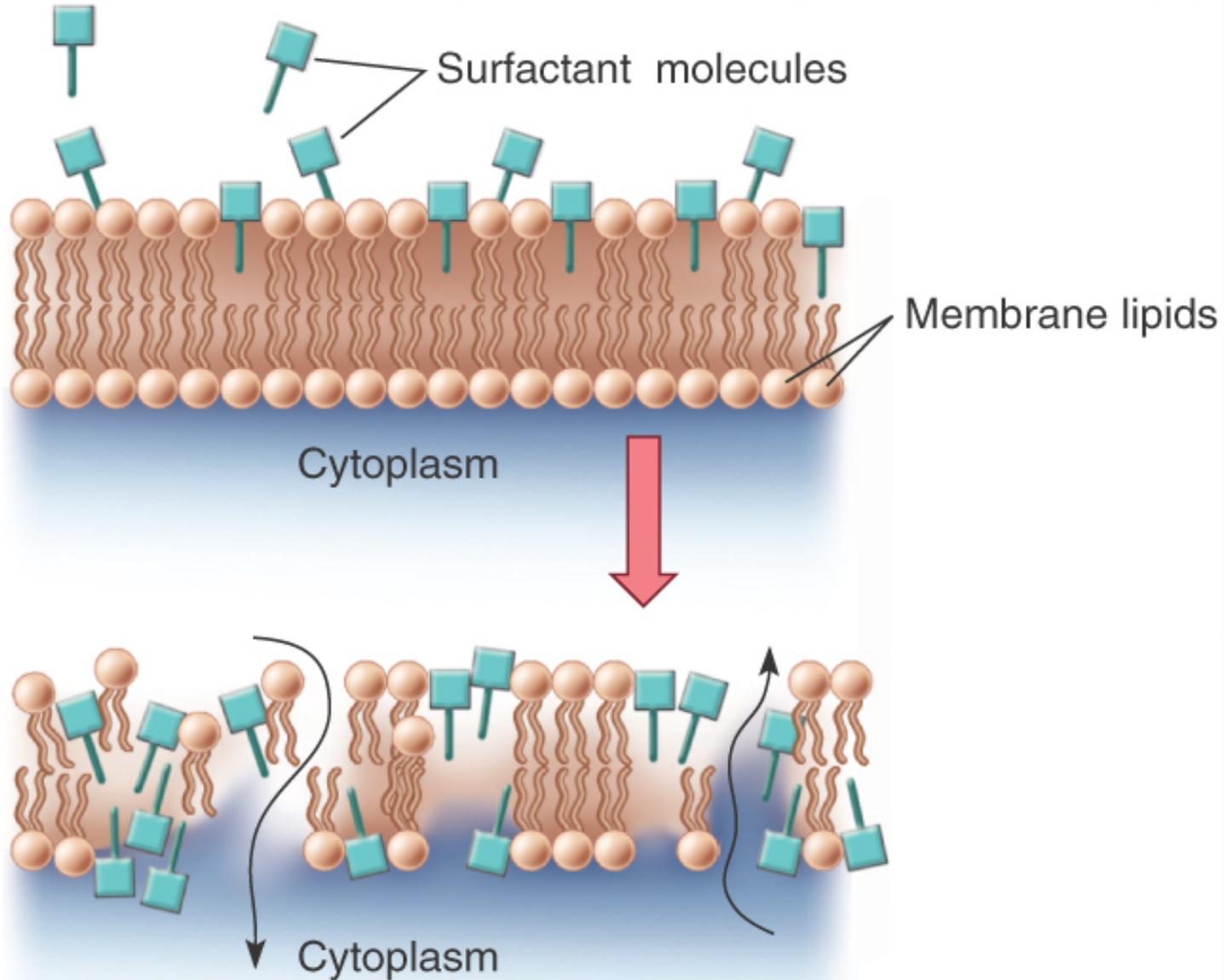
**Causa:** Afeta o crescimento celular e pode levar a morte. Ex. Pode afetar as purinas.



# Alvo Dos Agentes Químicos e Físicos

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

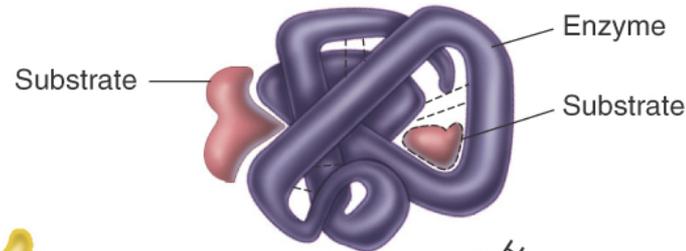
**Exemplo:**  
Surfactantes



# Alvo Dos Agentes Químicos e Físicos

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

(a) Native State



(b) Complete Denaturation

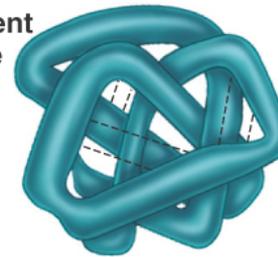


Heat  
pH Change

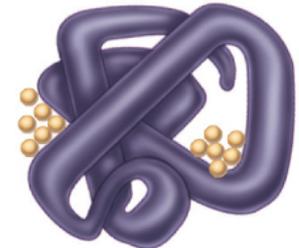
Heat  
pH Change

Heavy metal

(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 dissulfetos, ...

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

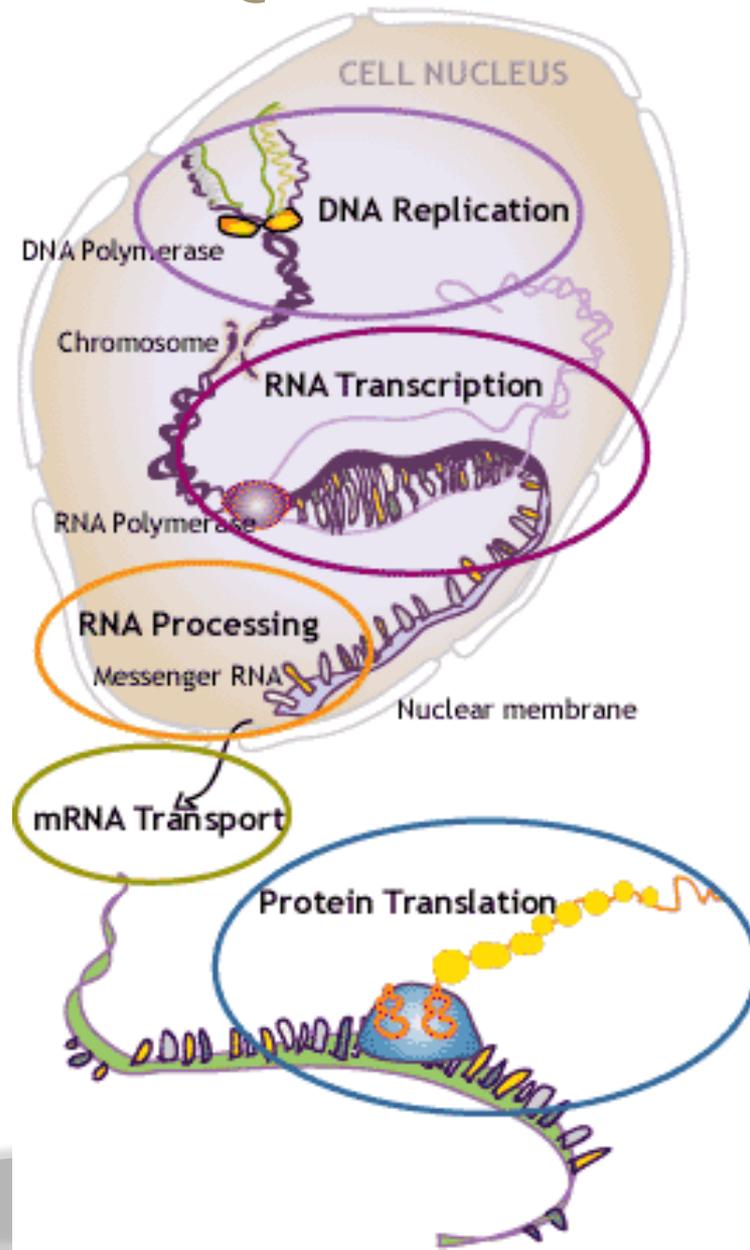
# Alvo Dos Agentes Químicos

## 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



# Classificação dos Ag. Químicos e Físicos com Base:

Efetividade e Toxicidade ao Homem

- 1. Esterilizantes:** Mata tudo, inclusive endosporos
- 2. Desinfetantes:** Mata tudo menos endosporos, reduz contaminação na superfície de objetos inanimadas
- 3. Antissépticos e Germicidas:** Matam ou inibem o crescimento da maioria dos microorganismos, pode ser usado na superfície da pele
- 4. Sanitizantes:** Reduz a níveis considerados seguros

# Classificação dos Ag. Químicos/Físicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

## 1. Esterilizantes: **Mata tudo, inclusive endosporos**

Tenta por calor ou radiação primeiro

1- Esterilização a frio: Camera de Gás: Oxido de Etileno, formaldeido, ácido peroxiacético,  $H_2O_2$ .

Ex. Usado em Hospitais: termômetros, cateteres, ...

2- Esterilizantes Líquidos:

Água sanitaria, amilfenol

Ex. Instalações que não toleram altas temperaturas nem o gás.

# Classificação dos Ag. Químicos/Físicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

**2. Desinfetantes: Mata tudo menos endosporos, reduz contaminação na superfície de objetos inanimadas.**

Usado em objetos Inanimados  
Mata as células vegetativas

1- Álcool e Detergentes Catiônicos

Ex. Hospitais e Consultórios Médicos.

Descontaminação de pisos, mesas, bancadas, paredes.

# Classificação dos Ag. Químicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

**3. Antissépticos e Germicidas: Matam ou inibem o crescimento da maioria dos microorganismos, pode ser usado na superfície da pele**

## **Atóxicos a Superfície da pele Humana**

Existem Antissépticos que também são desinfetantes.

Ex: álcool :

Altas concentrações e períodos longos: Desinfetante

60-85% de álcool ou isopropanol: Antisséptico

Ex. Lavagem das mãos e tratamento de feridas.

# Antissépticos

**Septicemia, sepse ou sépsis:** (do grego *Σήψις*, *septikós*, que causa putrefação + *haíma*, sangue) é o crescimento de microorganismos no sangue ou em outro tecido. Causa uma infecção geral grave do organismo por patógenos.

**Asepsie:** Qualquer prática para prevenir a entrada de qualquer microorganismos em tecidos estéreis, como o sangue.

# Classificação dos Ag. Químicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

## **4. Sanitizantes: Reduz a níveis considerados seguros**

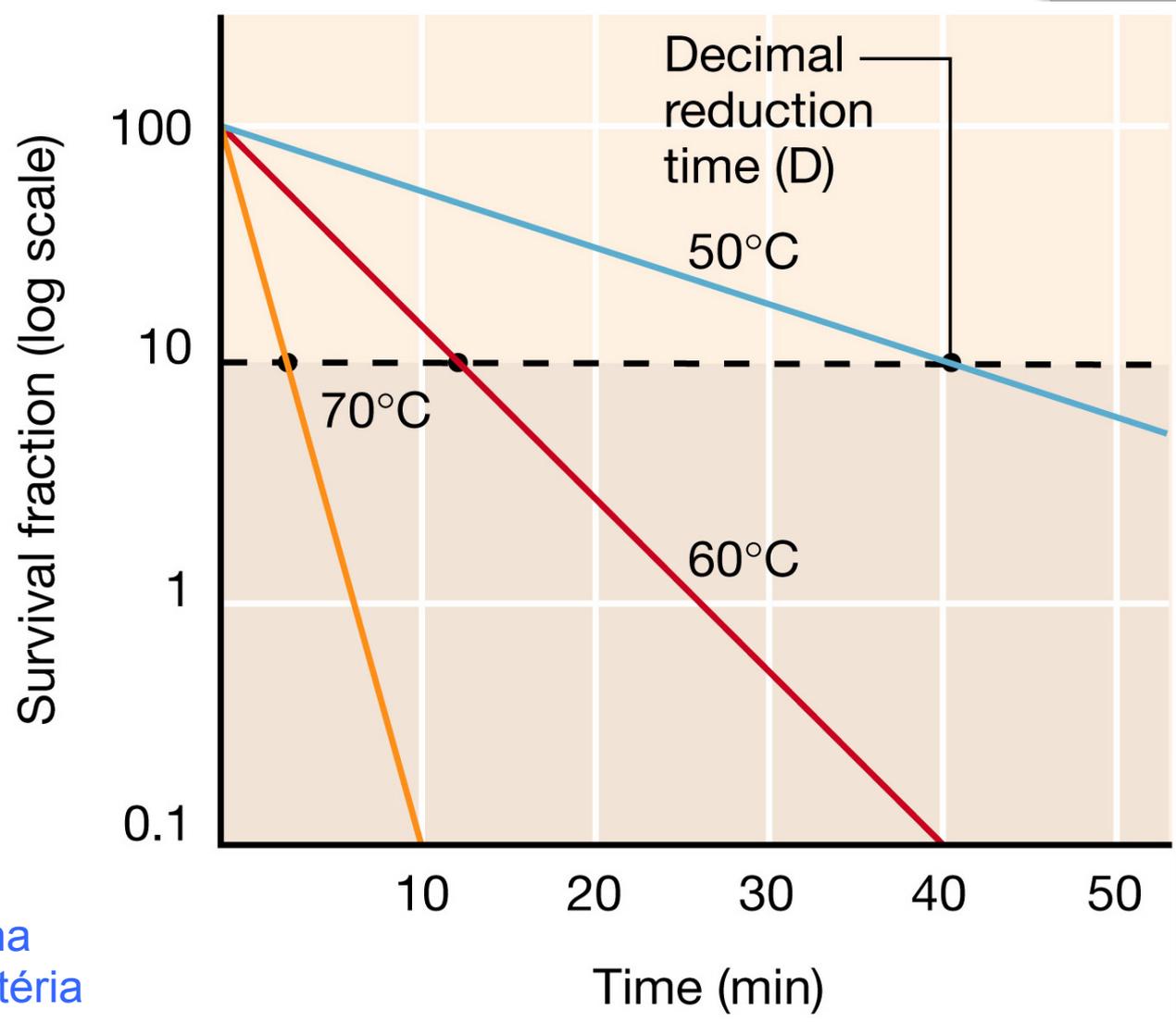
1- Detergentes

Ex. Industria Alimentícia

Lavagem de louças e utensílios, pisos, paredes, carpetes entre outros.

# Exemplos de Agentes Físicos

# Por Calor



Efeito da temperatura na viabilidade de uma bactéria mesofílica

Decimal reduction time (min)

100  
10  
1  
0.1

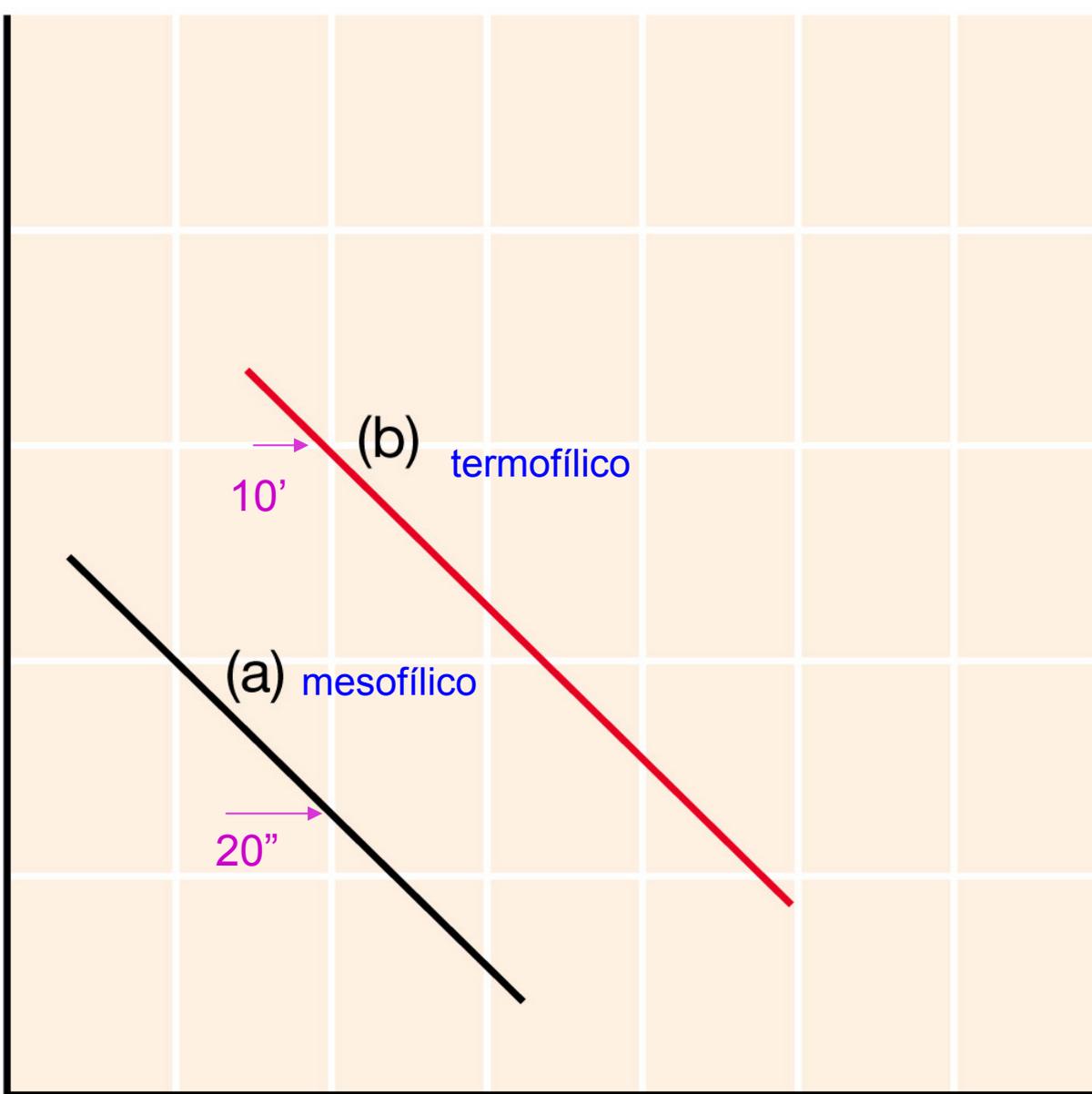
10' (b) termofílico

20" (a) mesofílico

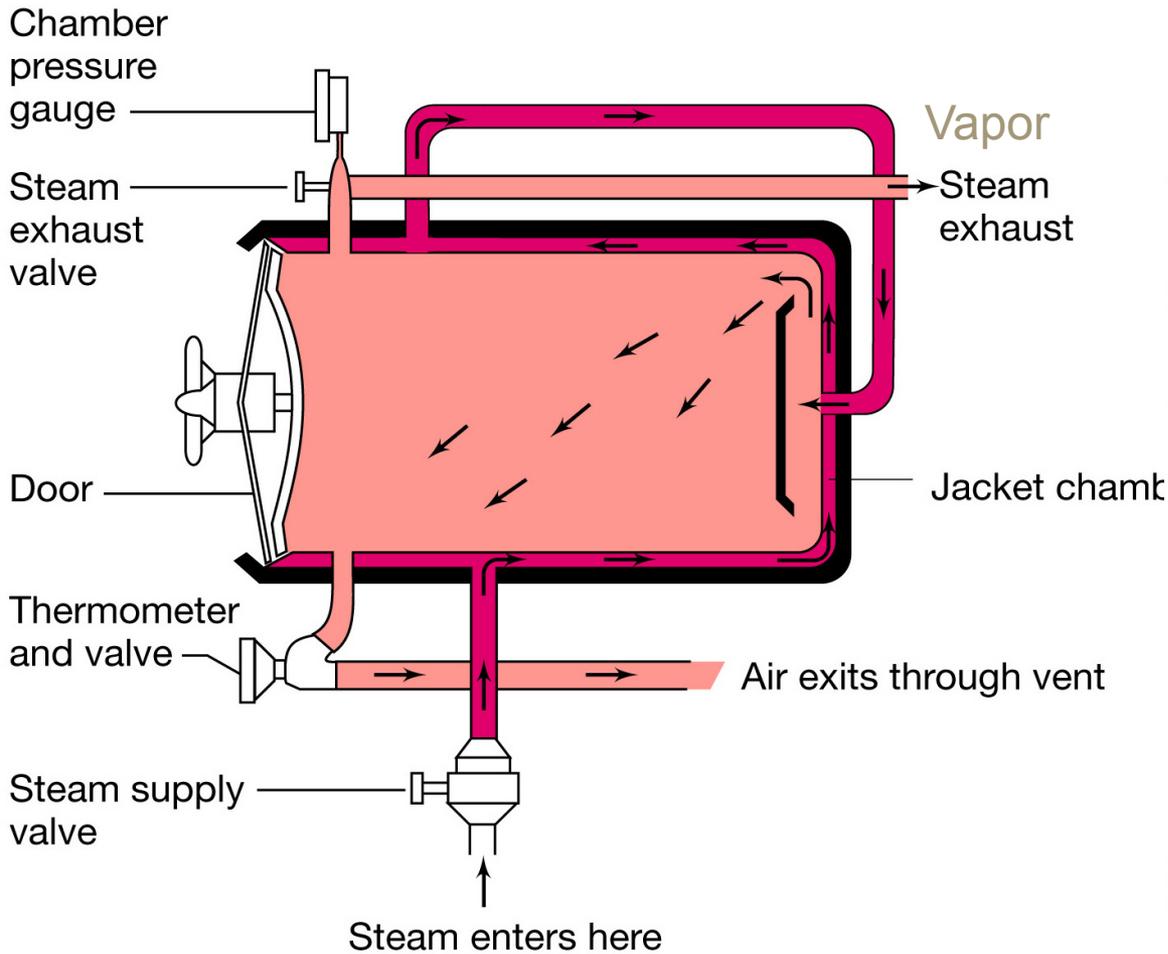
105 110 115 120 125 130

Temperature (°C)

Relação  
temperatura taxa de  
morte

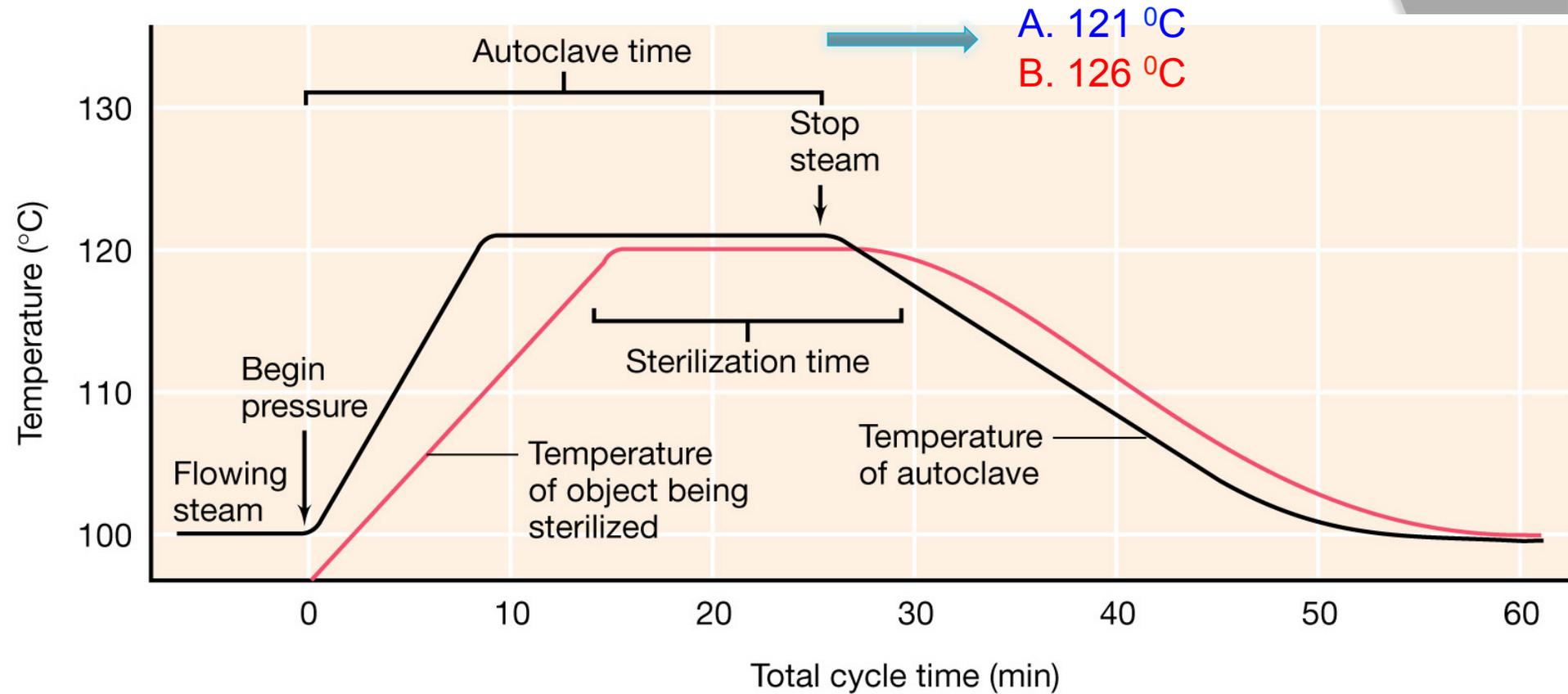


# Autoclave Húmida



(c)

# Ciclo de Autoclave – Existem vários ciclos e vários tipos de autoclaves



A. 15 psi  
B. 20 psi

# Pasteurização

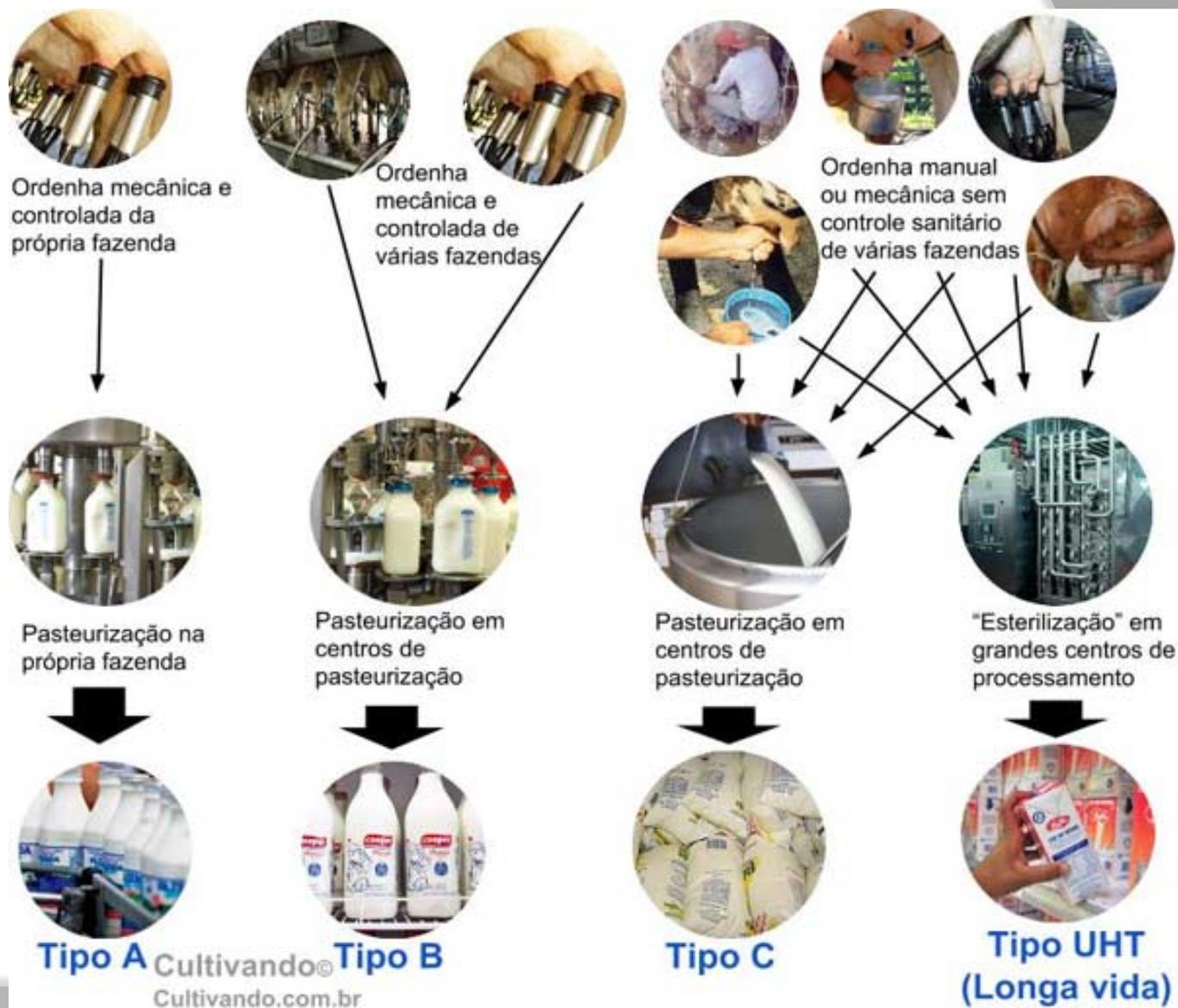
- ⦿ 63 -66 °C/30 minutos e resfriamento lento (perde propriedades) ou
- ⦿ 73 °C/15 segundos e resfriamento rápido (pasteurização rápida) ou
- ⦿ 140 °C/1 segundo

Processo de redução de microorganismos.

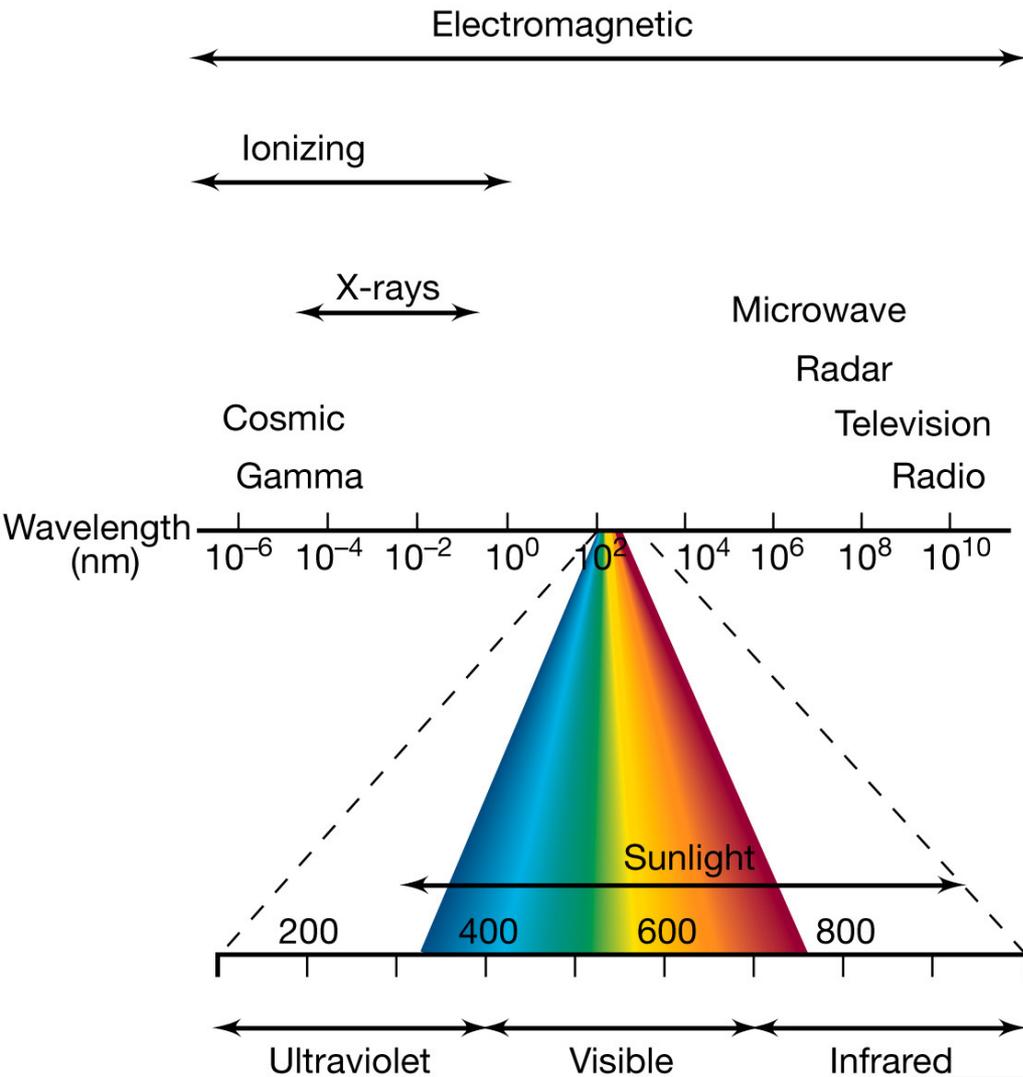
Desenvolvido por Louis Pasteur para que o vinho parecesse de estragar  
Matar os agentes causadores de tuberculosis, brucelloses, febre tifoide.

# Leite UHT (Ultra High Temperature)

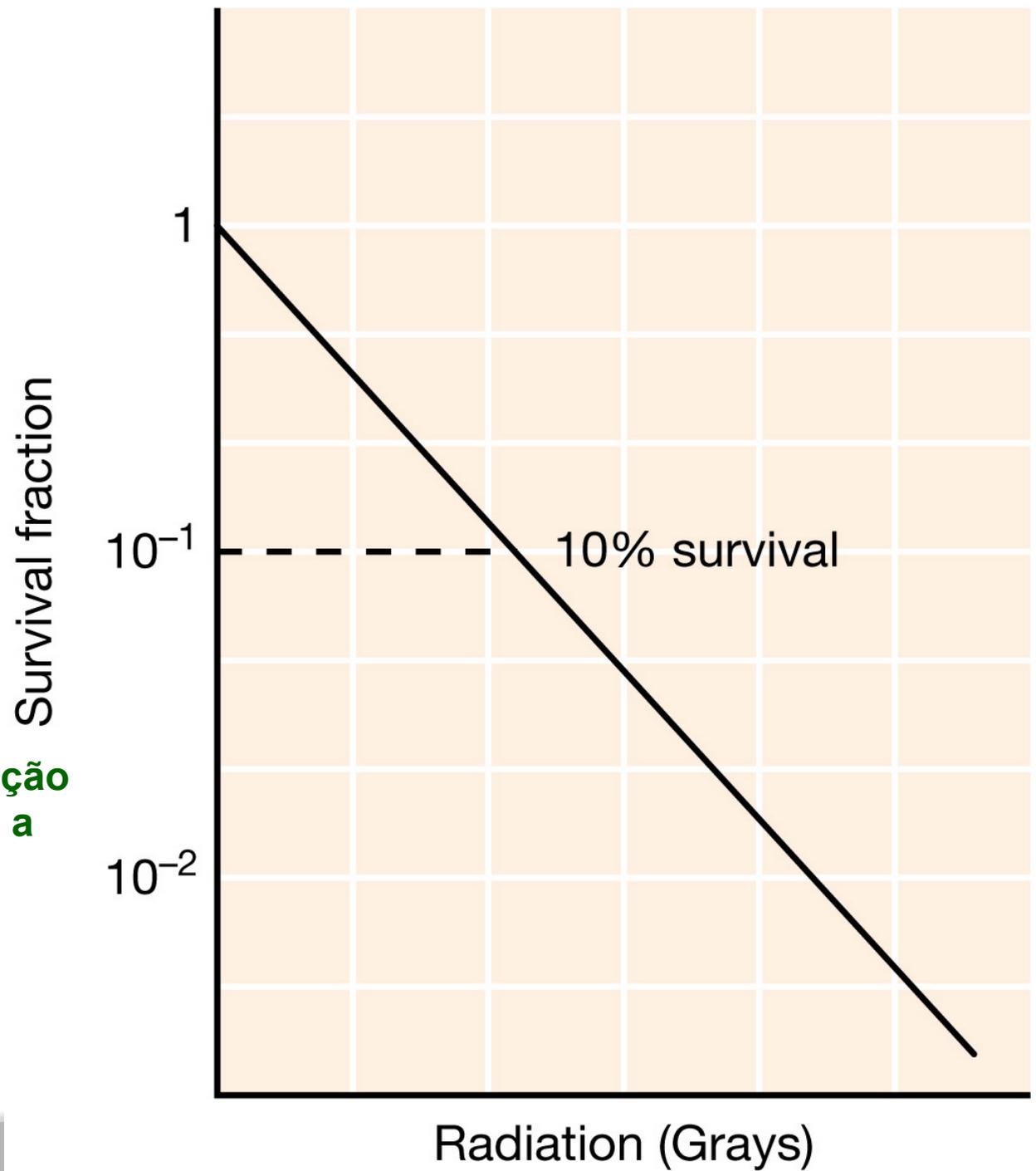
O Leite é homogeneizado e submetido a uma temperatura de 130 a 150°, entre 2 e 4 segundos, e imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C



# Esterilização por radiação



**Relação entre a fração de sobrevivência e a dose de radiação**

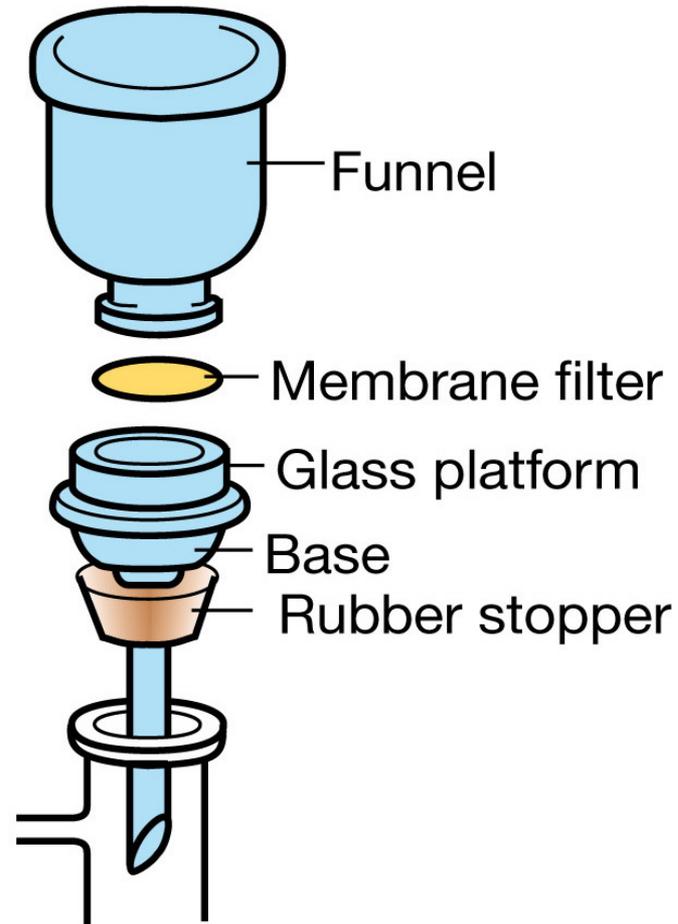


# Sensibilidade de microrganismos e funções biológicas à radiação

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

# Esterilização por Filtração

Filtros de 0.22  $\mu\text{M}$  e 0.45  $\mu\text{M}$



(a)

# Exemplos de Agentes Químicos

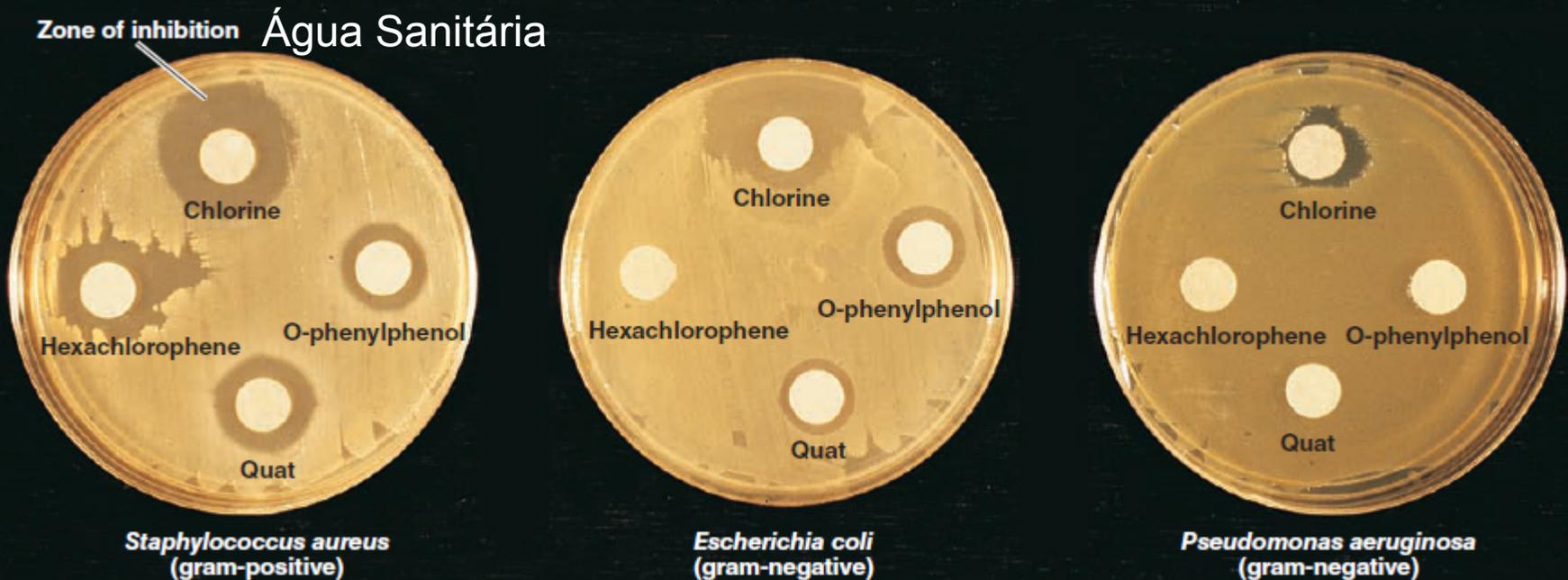
# Avaliar o Efeito do Agente Químico.

Teste de Diluição:

1- Faz o tratamento com a diluição proposta pelo fabricante.

2- Plaquei a conta o número de UFC

## Metódo de Difusão do Disco



# Mecanismo de Ação

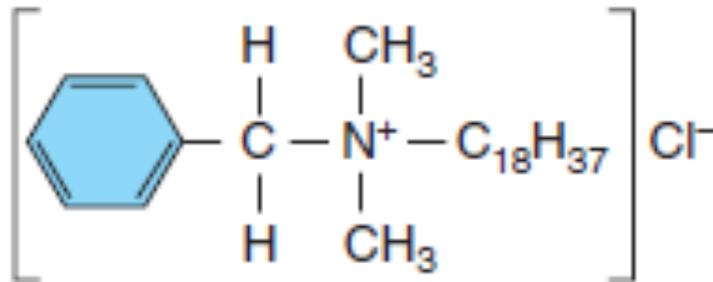
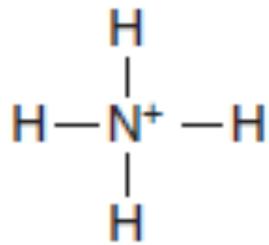


## Composição:

1- aqua e alguns possíveis sinérgicos como EDTA

**Aqua:** Compostos quartenários de Amônio

Zephiran



Cepacol  
Detergente Catiônico



Ammonium ion

Benzalkonium chloride

# Mecanismo de Ação: Aqua

Bactericida para G+ menos eficiente G-

Ação: Afeta a Membrana Plasmática (M.I), afetando a permeabilidade.

Perda de constituintes de M.I como  $K^+$

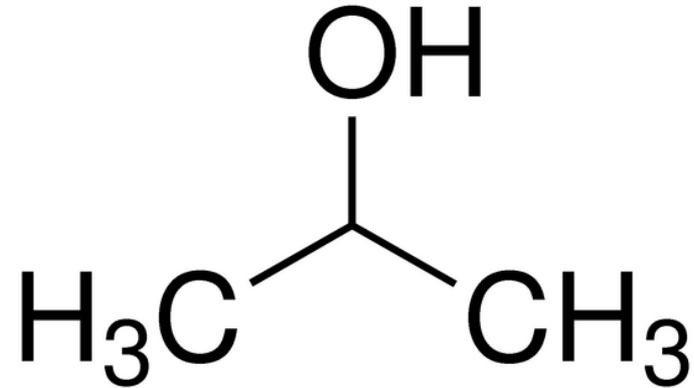
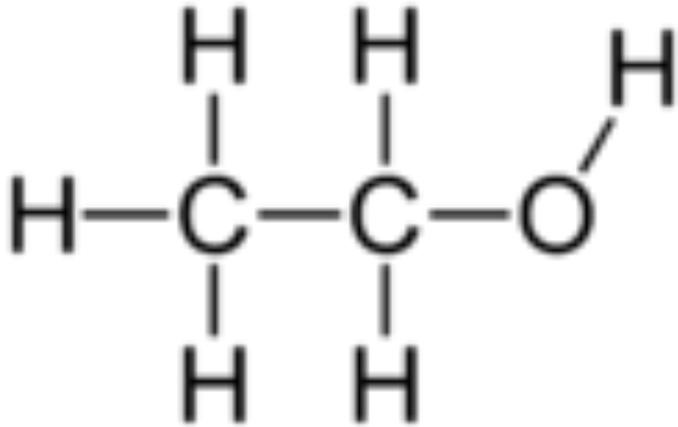
Encontra: Listerine, Colgate, Pasta de dente Oral-B,.....

*Pseudomonas* é resistente.



# Álcool: Etanol e Isopropanol

## Antisséptico e Desinfetante



- Mata bactérias e fungos, mas não endosporos
- Desnatura Proteínas
- Dissolve membrana
- Dissolve vários Lipídios

# 70% 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:

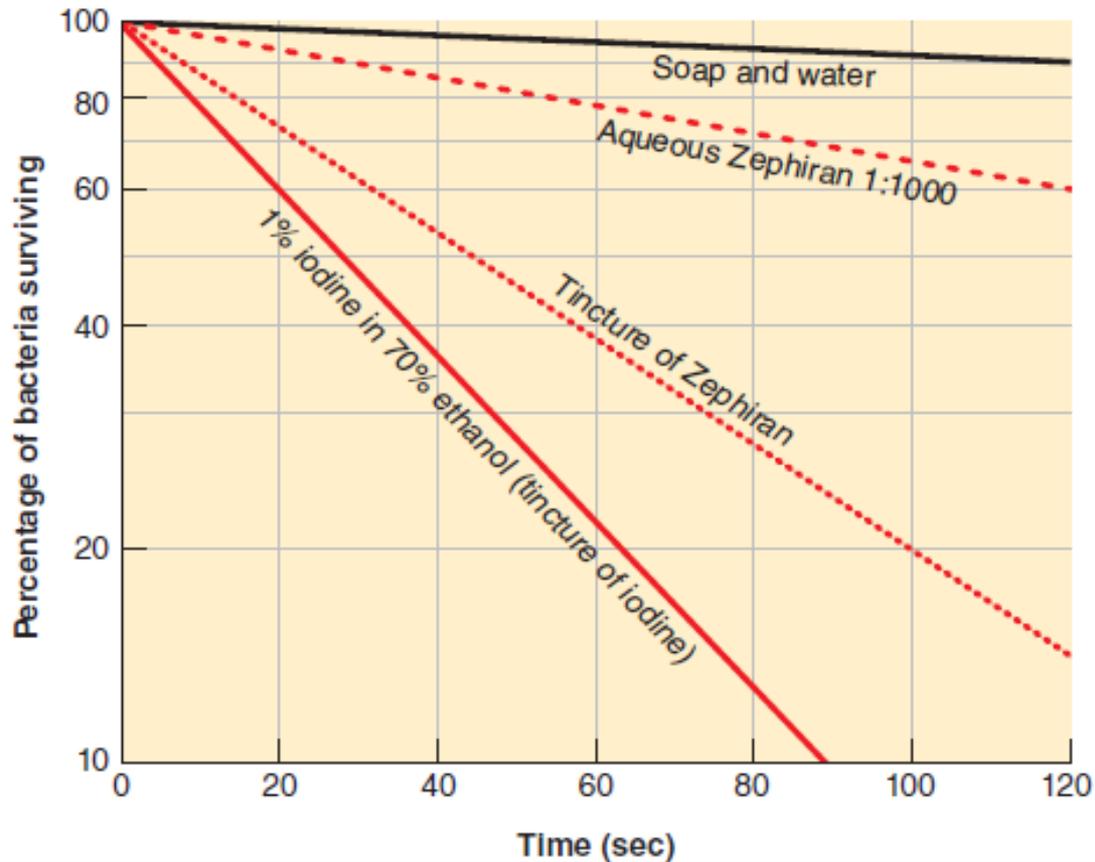
G = growth

NG = no growth

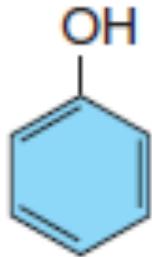
→ Fixa a Bactéria – Atua apenas na Membrana Externa

# Álcool como Sinérgico para outros Agentes Químicos

- Etanol e Isopropanol é usado como sinérgico
- Como em conjunto com Zepherin (Aqua)

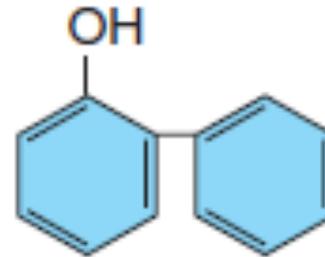


# Fenol e Fenólicos



(a) Phenol

**Cresol –  
Ótimo desinfetante de Superfícies**

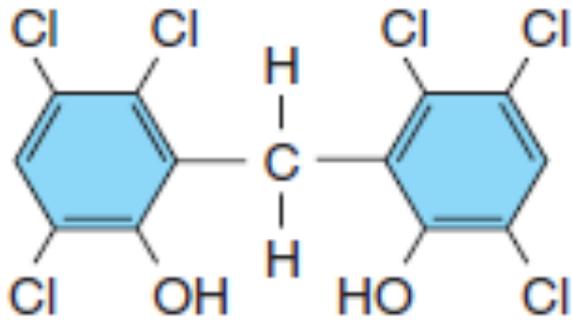


(b) O-phenylphenol

# Fenol e Fenólicos

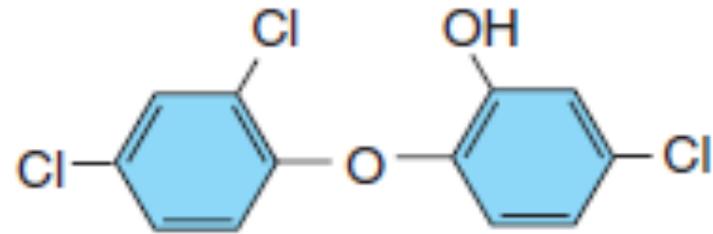
- ⦿ Usado no controle de infecção em mesas cirúrgicas
- ⦿ 1% fenol tem ação antibacteriano forte
- ⦿ Age na Membrana plasmática – ocasionando o vasamento do conteúdo celular – Morte celular.
- ⦿ Estável e não afetado por comp. orgânicos
  - Desinfecção de pus, saliva, fezes.
- ⦿ Raramente usado como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

# Bisfenol



(c) Hexachlorophene (a bisphenol)

## Pastas de Dentes Sabões

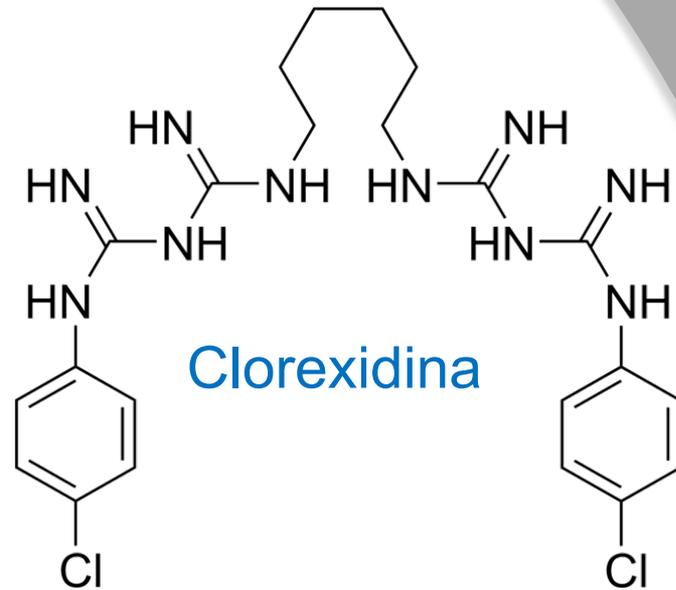
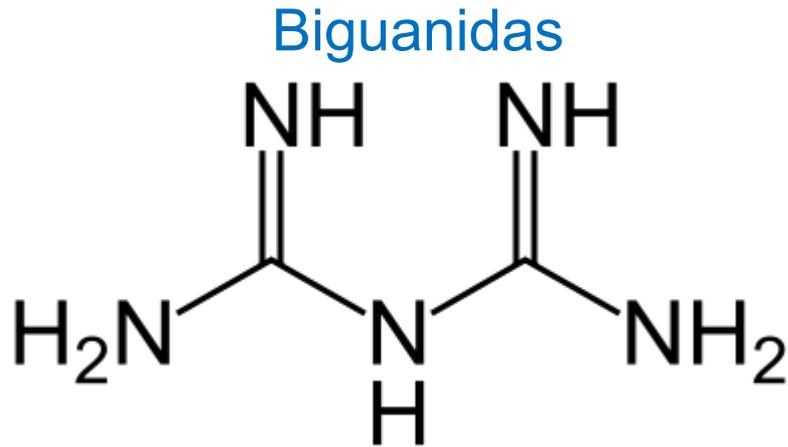


(d) Triclosan (a bisphenol)

# Bisfenol - Ação

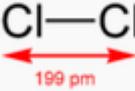
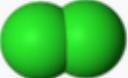
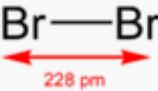
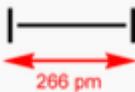
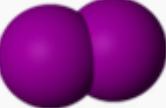
- ⦿ Triclosan : Enzima FabI, biossíntese de ácidos graxos (lipídios)
- ⦿ Afeta a integridade da membrana plasmática
- ⦿ Ótimo para G<sup>+</sup>, mas age bem G<sup>-</sup> e fungos
- ⦿ *P. aeruginosa* é resistente

# Biguanidas



- Amplo 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

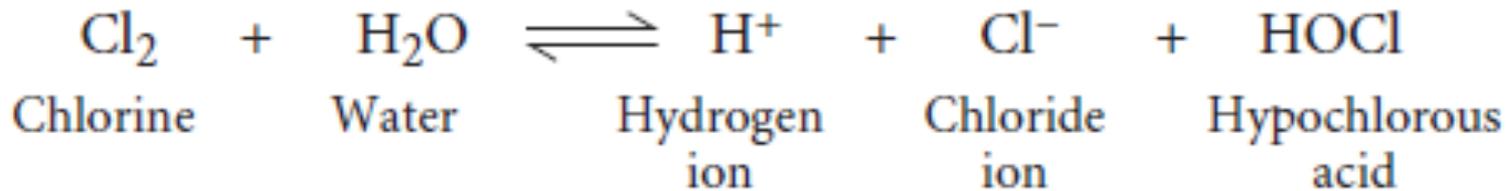
Halógeno	Molécula	Estrutura	Modelo	$d(X-X)$ / pm (fase gaseosa)	$d(X-X)$ / pm (fase sólida)
Flúor	F <sub>2</sub>			143	149
Cloro	Cl <sub>2</sub>			199	198
Bromo	Br <sub>2</sub>			228	227
Yodo	I <sub>2</sub>			266	272

- Alta Eletronegatividade: Rouba e<sup>-</sup>, principalmente o fluor
- Agentes Oxidantes

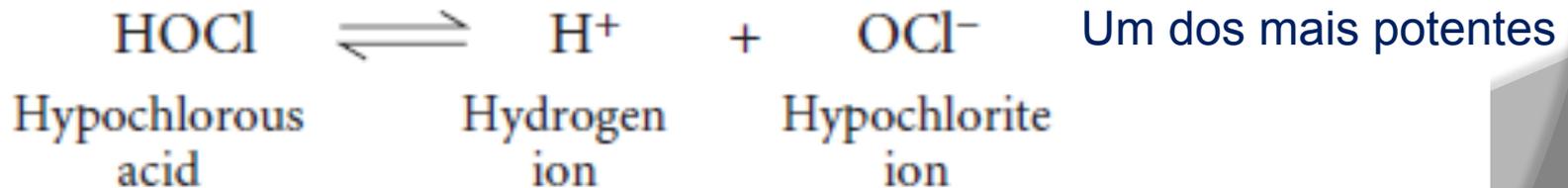
# Halógenos

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

(1)



(2)

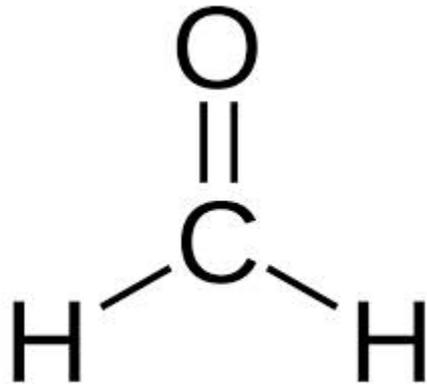


# Aldeídos

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

## Formaldeído & Glutaraldeído

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

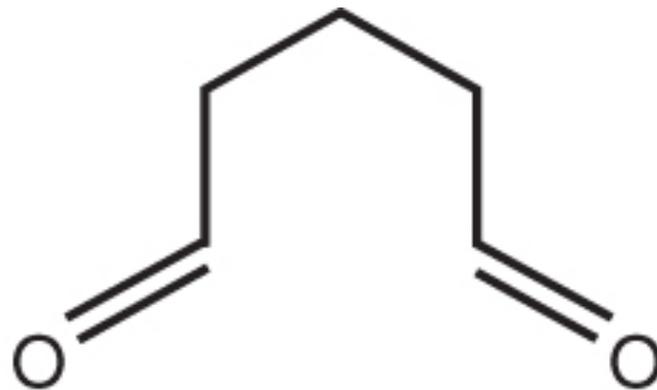


# Aldeídos

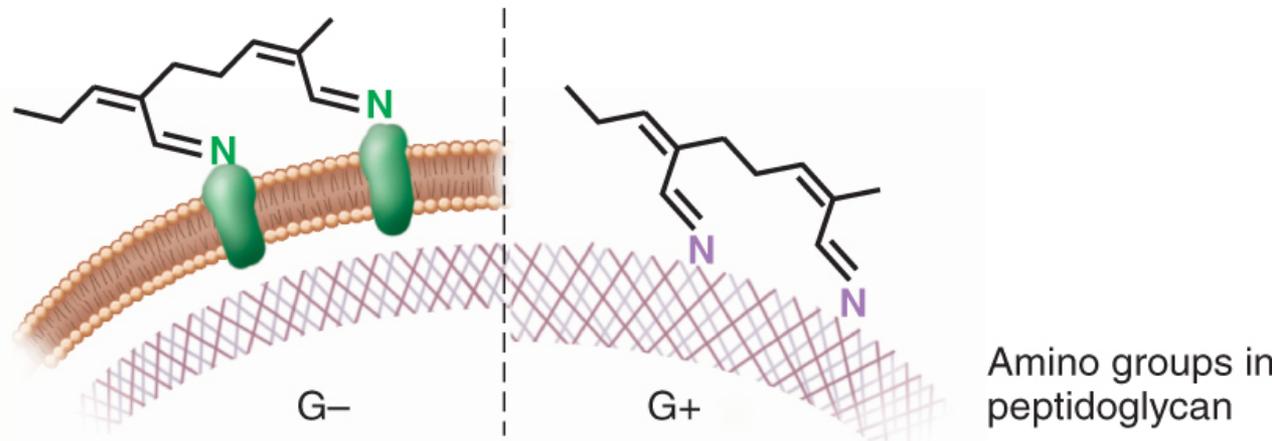
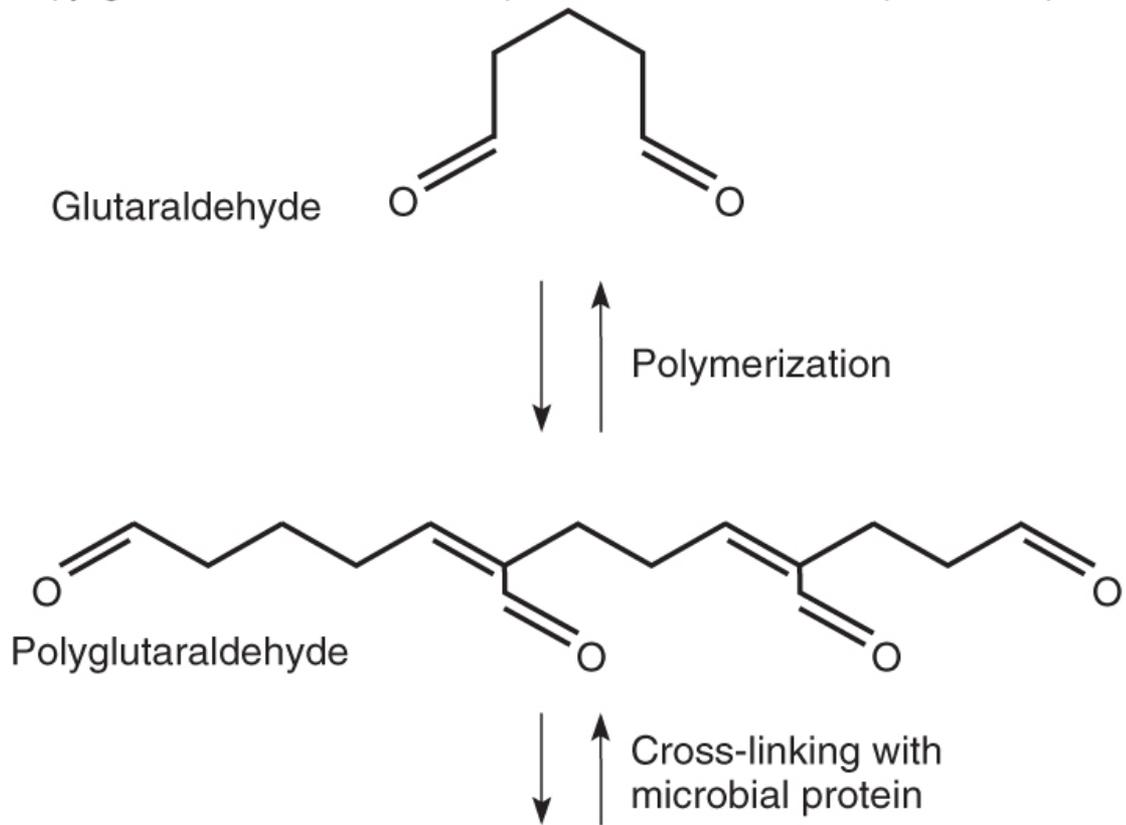
- Glutaraldeído – Pode ser considerado **Agente Esterilizante**

- Mais efetivo e menos irritante
- Usado como desinfetante:
  - Instrumentos hospitalares
  - 2% bactericida, tuberculocida e virucida em 10 min, esporocida em 3-10h.

Glutaraldehyde



# Áção Glutaraldeído



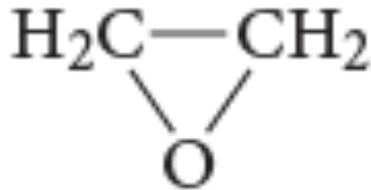
# Metais Pesados

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

# Gases Químico-esterilizantes

## ⊙ Esterilizam em cameras

- Óxido de Etileno



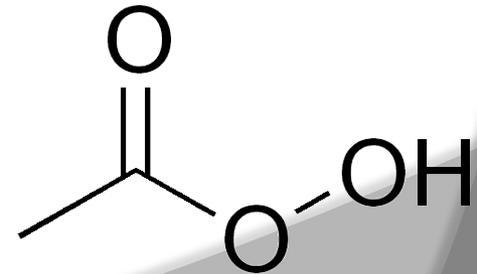
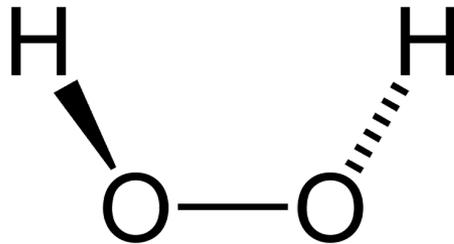
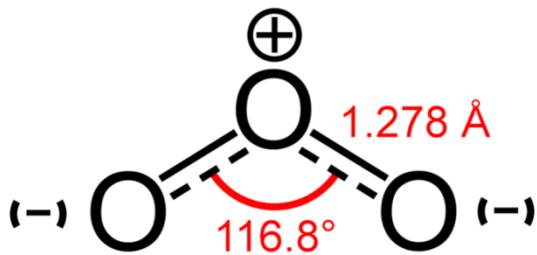
- Ação Bactericida 4-18h:

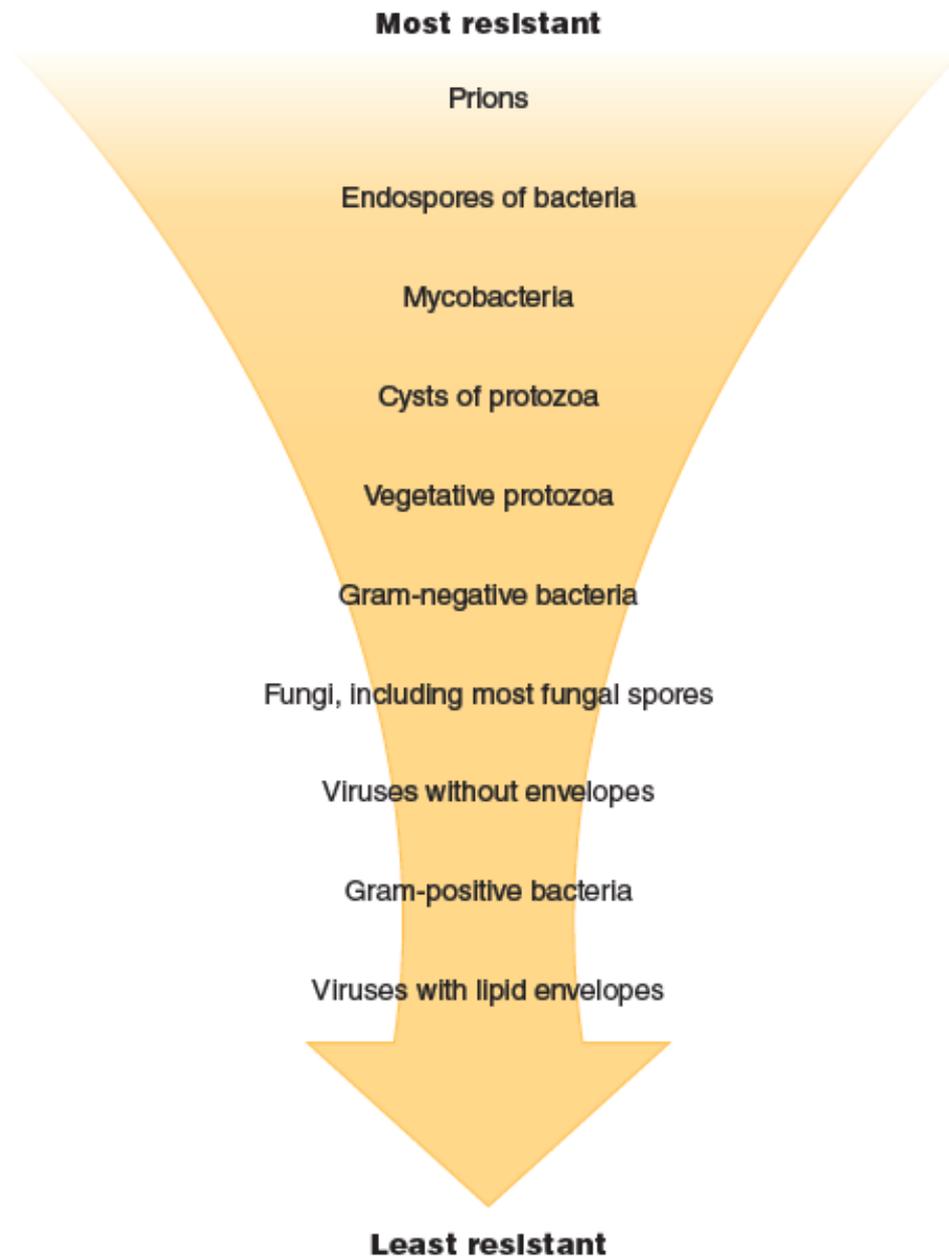
### Desnaturação de Proteínas

- Os hidrogenios labéis (Cys, D, E, S, Y) são trocados por grupos alquilas (-CH<sub>3</sub>)

# Agentes Oxidantes - Peróxidos

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





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

## The Effectiveness of Chemical Antimicrobials against Endospores and Mycobacteria

TABLE 7.7

Chemical Agent	Endospores	Mycobacteria
Mercury	No activity	No activity
Phenolics	Poor	Good
Bisphenols	No activity	No activity
Quats	No activity	No activity
Chlorines	Fair <b>razoável</b>	Fair
Iodine	Poor	Good
Alcohols	Poor	Good
Glutaraldehyde	Fair	Good
Chlorhexidine	No activity	Fair

# Antimicrobianos Usados na Industria

**Table 26.4** *Industrial uses of antimicrobial chemicals*

<b>Industry</b>	<b>Chemicals</b>	<b>Use</b>
Paper	Organic mercurials, phenols, <sup>a</sup> methylisothiazolinone	To prevent microbial growth during manufacture
Leather	Heavy metals, phenols <sup>a</sup>	Antimicrobial agents present in the final product inhibit growth
Plastic	Cationic detergents	To prevent growth of bacteria on aqueous dispersions of plastics
Textile	Heavy metals, phenols <sup>a</sup>	To prevent microbial deterioration of fabrics, such as awnings and tents, that are exposed in the environment
Wood	Metal salts, phenols <sup>a</sup>	To prevent deterioration of wooden structures
Metal working	Cationic detergents	To prevent growth of bacteria in aqueous cutting emulsions
Petroleum	Mercurics, phenols, <sup>a</sup> cationic detergents, methylisothiazolinone	To prevent growth of bacteria during recovery and storage of petroleum and petroleum products
Air conditioning	Chlorine, phenols, <sup>a</sup> methylisothiazolinone	To prevent growth of bacteria (for example, <i>Legionella</i> ) in cooling towers
Electrical power	Chlorine	To prevent growth of bacteria in condensers and cooling towers
Nuclear	Chlorine	To prevent growth of radiation-resistant bacteria in nuclear reactors

# Resumo

**Table 26.5** *Antiseptics, sterilants, disinfectants, and sanitizers*

<i>Agent</i>	<i>Use</i>	<i>Mode of action</i>
<b>Antiseptics</b>		
Alcohol (60–85% ethanol or isopropanol in water) <sup>a</sup>	Topical antiseptic	Lipid solvent and protein denaturant
Phenol-containing compounds (hexachlorophene, triclosan, chloroxylenol, chlorhexidine) <sup>b</sup>	Soaps, lotions, cosmetics, body deodorants, topical disinfectants	Disrupts cytoplasmic membrane
Cationic detergents, especially quaternary ammonium compounds (benzalkonium chloride)	Soaps, lotion, topical disinfectants	Interact with phospholipids of cytoplasmic membrane
Hydrogen peroxide <sup>a</sup> (3% solution)	Topical antiseptic	Oxidizing agent
Iodine-containing iodophor compounds in solution <sup>a</sup> (Betadine <sup>®</sup> )	Topical antiseptic	Iodinate tyrosine residues of proteins; oxidizing agent
Octenidine	Topical antiseptic	Disrupts cytoplasmic membrane

## Sterilants, disinfectants, and sanitizers<sup>c</sup>

Alcohol (60–85% ethanol or isopropanol in water) <sup>a</sup>	Disinfectant for medical instruments and laboratory surfaces	Lipid solvent and protein denaturant
Cationic detergents (quaternary ammonium compounds, Lysol <sup>®</sup> and many related disinfectants)	Disinfectant and sanitizer for medical instruments, food and dairy equipment	Interact with phospholipids
Chlorine gas	Disinfectant for purification of water supplies	Oxidizing agent
Chlorine compounds (chloramines, sodium hypochlorite, sodium chlorite, chlorine dioxide)	Disinfectant and sanitizer for dairy and food industry equipment, and water supplies	Oxidizing agent
Copper sulfate	Algicide disinfectant in swimming pools and water supplies	Protein precipitant
<u>Ethylene oxide (gas)</u>	<u>Sterilant for temperature-sensitive materials such as plastics and lensed instruments</u>	Alkylating agent
<u>Formaldehyde</u>	3–8% solution used as surface disinfectant, 37% (formalin) or <u>vapor used as sterilant</u>	Alkylating agent
<u>Glutaraldehyde</u>	2% solution used as high-level disinfectant or sterilant, commonly <u>used fixative in electron microscopy</u>	Alkylating agent
<u>Hydrogen peroxide<sup>a</sup></u>	<u>Vapor used as sterilant</u>	Oxidizing agent
Iodine-containing iodophor compounds in solution <sup>a</sup> (Wescodyne <sup>®</sup> )	Disinfectant for medical instruments and laboratory surfaces	Iodates tyrosine residues
Mercuric dichloride <sup>b</sup>	Disinfectant for laboratory surfaces	Combines with –SH groups
OPA (ortho-phthalaldehyde)	High-level disinfectant for medical instruments	Alkylating agent
Ozone	Disinfectant for drinking water	Strong oxidizing agent
<u>Peroxyacetic acid</u>	Solution used as high-level disinfectant or sterilant	Strong oxidizing agent
Phenolic compounds <sup>b</sup>	Disinfectant for laboratory surfaces	Protein denaturant
Pine oils (Pine-Sol <sup>®</sup> ) (contains phenolics and other detergents)	General disinfectant for household surfaces	Protein denaturant