

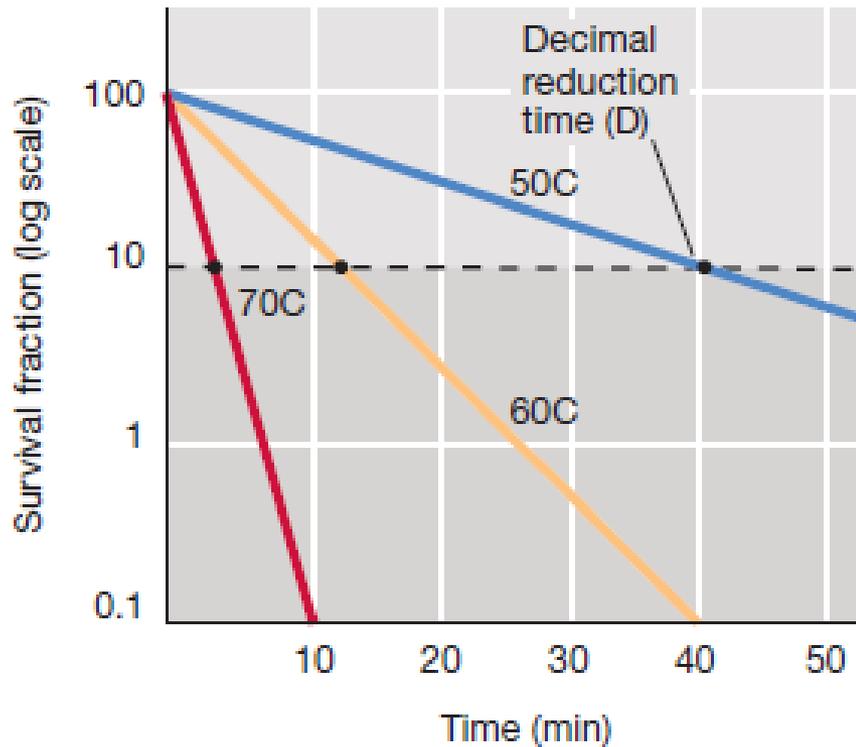
---

# Controle microbiano

**Tabela 11.1** Processos e tipos de agentes físicos ou químicos usados no controle microbiano.

| Processo       | Conceito  | Tipo de agente                 | Exemplos de emprego  |
|----------------|---|--------------------------------|--|
| Esterilização* | Destruição de todas as formas de vida   | Físico (mais comum) ou químico | Meios de cultura, soluções de laboratório, instrumentos cirúrgicos |
| Desinfecção    | Destruição de formas vegetativas microbianas (não obrigatoriamente de esporos)          | Químico (mais comum) ou físico | Superfície de materiais inanimados                                 |
| Antissepsia    | Inibição ou destruição de microrganismos localizados em tecidos vivos                   | Químico                        | Pele e mucosas   |
| Pasteurização  | Redução do número de contaminantes microbianos em determinados materiais                | Físico                         | Alimentos  |
| Sanitização    | Redução da população microbiana a níveis considerados seguros para a saúde da população | Químico                        | Indústria de alimentos e área de preparo de alimentos              |

\*Os termos **estéril** e **esterilizar** em Microbiologia referem-se à ausência total ou destruição de qualquer forma de microrganismos e devem ser entendidos no sentido absoluto: um objeto está ou não estéril, isto é, não existe esterilidade parcial.



$D_{10}$  = tempo necessário para reduzir em 90% a população bacteriana.

$$D_{10} = 1/Kd$$

**Figure 26.1** The effect of temperature over time on the viability of a mesophilic bacterium. The decimal reduction time,  $D$ , is the time at which only 10% of the original population of organisms remains viable at a given temperature. For 70°C,  $D = 3$  min; for 60°C,  $D = 12$  min; for 50°C,  $D = 42$  min.

$$\text{Log } N = \text{Log } N_0 - Kd.t$$

Considerando um material que em média apresenta 1000 UFC por peça e um agente físico que a intensidade aplicada determina um  $K_d = 0,2 \text{ min}^{-1}$  ( $D_{10} = 5 \text{ min}$ ). Qual o tempo necessário para obter a esterilização?

Embora o conceito de esterilização seja absoluto (ou seja, ausência de microrganismos vivos ou mesmo latentes), a função logarítmica tende a zero, mas nunca chega em zero (limite da função).

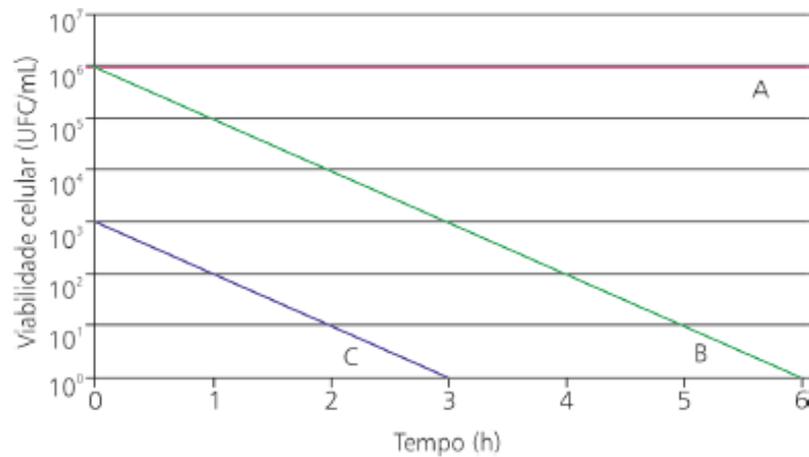
Para resolver esse problema é necessário lidar com o conceito de probabilidade. Assim, quando considerarmos  $X = 0,1$  temos 10% de probabilidade de falhar o processo de esterilização. Da mesma forma:

$X = 0,01$  – probabilidade de falha 1%

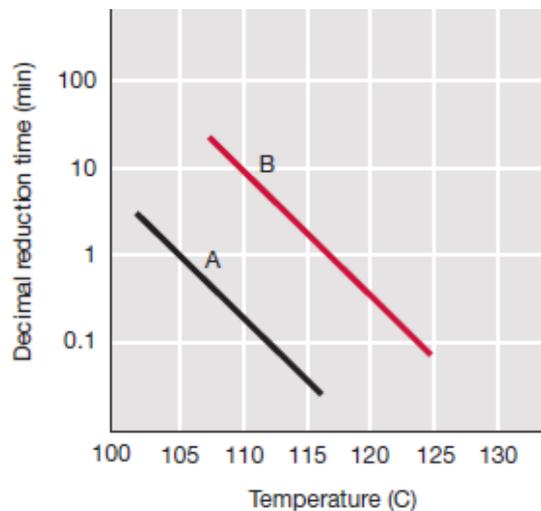
$X = 0,001$  – probabilidade de falha 0,1% e assim por diante.

Alguns processos podem exigir uma baixa probabilidade de falha

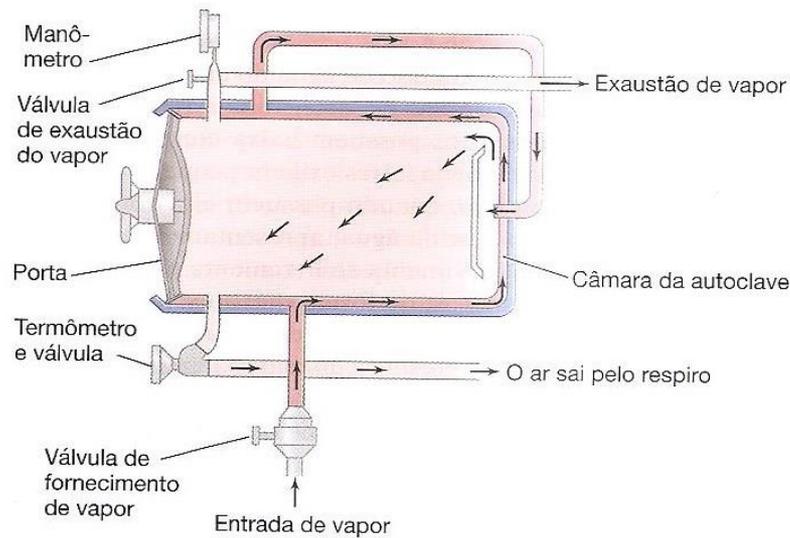
$$X = 10^{-12}$$



**Figura 11.2** Cinética de sobrevivência de bactérias submetidas a agentes bacteriostáticos (curva A) e bactericidas (curvas B e C). **Curva A** – ação de um agente bacteriostático em uma população. **Curva B** – ação de um agente bactericida que mata 90% da população a cada hora. **Curva C** - ação de um agente bactericida que mata 90% da população a cada hora.



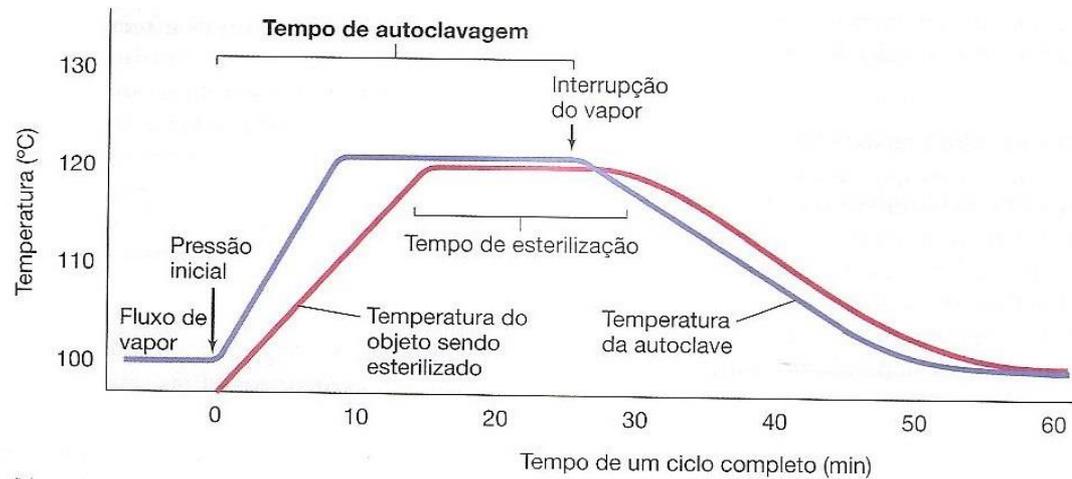
**Figure 26.2** The relationship between temperature and the rate of killing in mesophiles and thermophiles. Data were obtained for decimal reduction times, *D*, at several different temperatures, as in Figure 26.1. For organism A, a typical mesophile, exposure to 110°C for less than 20 sec resulted in a decimal reduction, while for organism B, a thermophile, 10 min was required to achieve a decimal reduction.



(a)



(c)



(b)

**Figura 27.3 A autoclave e a esterilização pelo calor úmido.** (a) O fluxo do vapor através de uma autoclave. (b) Um ciclo típico de autoclavagem. É apresentado o perfil temporal de aquecimento de um objeto relativamente volumoso. A temperatura do objeto aumenta e decresce mais lentamente do que a temperatura da autoclave. A temperatura do objeto deve atingir a temperatura-alvo, sendo mantida por 10-15 minutos para garantir a esterilidade, independentemente da temperatura e do tempo registrados na autoclave. (c) Uma moderna autoclave de pesquisa. Observe a porta de travamento por pressão e os controles de ciclo automático no painel à direita. Os ajustes para a entrada de vapor e de exaustão localizam-se na lateral direita da autoclave.

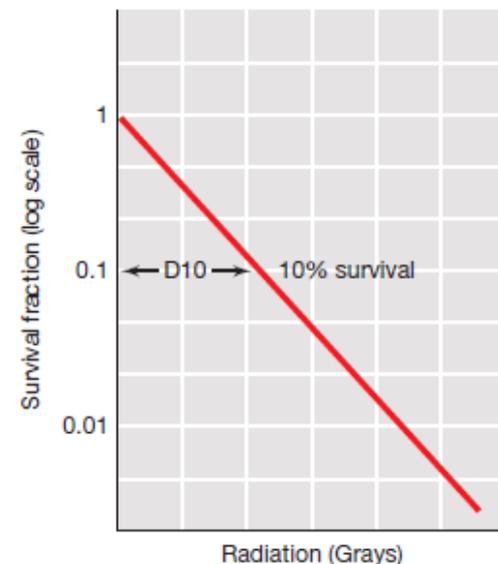


**Figura 27.4 Fluxo laminar de segurança biológica.** A câmara apresentada possui uma fonte de radiação ultravioleta (UV) (lâmpada de vapor de mercúrio), utilizada para a descontaminação das superfícies internas. A grade metálica da parte traseira recobre um filtro HEPA (alta eficiência para ar particulado). O ar externo à câmara é bombeado através do filtro HEPA. O ar filtrado, livre de contaminantes, incluindo micro-organismos, penetra na câmara. O ar presente no interior da câmara é deslocado através das ventilações que circundam a face anterior e retorna através do filtro HEPA. Assim, a câmara é desenvolvida de modo a propiciar uma área de trabalho livre de contaminantes, enquanto protege o pesquisador, ao impedir a saída de ar diretamente a partir da câmara.

**Table 26.1** Radiation sensitivity of microorganisms and biological functions

| Species or function             | Type of microorganism                                 | D10 <sup>a</sup> (Gy) |
|---------------------------------|---|-----------------------|
| <i>Clostridium botulinum</i>    | Gram-positive, anaerobic, sporulating <i>Bacteria</i> | 3300                  |
| <i>Clostridium tetani</i>       | Gram-positive, anaerobic, sporulating <i>Bacteria</i> | 2400                  |
| <i>Bacillus subtilis</i>        | Gram-positive, aerobic, sporulating <i>Bacteria</i>   | 600                   |
| <i>Escherichia coli</i> O157:H7 | Gram-negative <i>Bacteria</i>                         | 300                   |
| <i>Salmonella typhimurium</i>   | Gram-negative <i>Bacteria</i>                         | 200                   |
| <i>Lactobacillus brevis</i>     | Gram-positive <i>Bacteria</i>                         | 1200                  |
| <i>Deinococcus radiodurans</i>  | Gram-negative, radiation-resistant <i>Bacteria</i>    | 2200                  |
| <i>Aspergillus niger</i>        | Mold  | 500                   |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Yeast   | 500                   |
| Foot-and-mouth                  | Virus   | 13,000                |
| Coxsackie                       | Virus   | 4500                  |
| Enzyme inactivation             |   | 20,000–50,000         |
| Insect deinfestation            |   | 1000–5000             |

<sup>a</sup>D10 is the amount of radiation necessary to reduce the initial population or activity level 10-fold (1 logarithm). Gy = grays. 1 gray = 100 rads. The lethal dose for humans is 10 Gy.



**Figure 26.5** Relationship between the survival fraction and the radiation dose of a microorganism. The D10, or decimal reduction dose, can be interpolated from the data as shown.

**Table 26.2** *Medical and laboratory products sterilized by radiation*

| <i>Tissue grafts</i> | <i>Drugs</i>    | <i>Medical and laboratory supplies</i> |
|----------------------|-----------------|--|
| Cartilage            | Chloramphenicol | Disposable labware                     |
| Tendon               | Ampicillin      | Culture media                          |
| Skin                 | Tetracycline    | Syringes                               |
| Heart valve          | Atropine        | Surgical equipment                     |
|                      | Vaccines        | Sutures                                |
|                      | Ointments       |  |

**Table 26.3** *Recommended radiation dose for decontamination of selected foods*

| <i>Food type</i>   | <i>kiloGrays</i> |
|--------------------|------------------|
| Fruit              | 1                |
| Poultry            | 3                |
| Spices, seasonings | 30               |



J. Martinko

**Figure 26.7** Membrane filters. Disposable, presterilized, and assembled membrane filter units. Left: a filter system designed for small volumes. Right: a filter system designed for larger volumes.

**Tabela 27.4** Antissépticos, esterilizantes, desinfetantes e sanitizantes

| <i>Agente</i>  | <i>Uso</i>   | <i>Modo de ação</i>   |
|--|--|---|
| <b>Antissépticos</b>   |  |   |
| Álcool (etanol ou isopropanol 60-85%, diluídos em água) <sup>a</sup>                               | Antisséptico tópico  | Solvente de lipídeos e desnaturante de proteínas            |
| Compostos contendo fenol (hexaclorofeno, triclosan, cloroxilenol, clorexidina) <sup>b</sup>        | Sabões, loções, cosméticos, desodorantes corporais, desinfetantes tópicos                                | Destroem a membrana celular                                 |
| Detergentes catiônicos, especialmente os compostos quaternários de amônio (cloreto de benzalcônio) | Sabões, loções, desinfetantes tópicos  | Interagem com os fosfolipídeos da membrana citoplasmática   |
| Peróxido de hidrogênio <sup>c</sup> (solução a 3%)   | Antisséptico tópico  | Agente oxidante   |
| Compostos iodóforos, contendo iodo em solução <sup>d</sup> (Betadine®)                             | Antisséptico tópico  | Iodinam resíduos de tirosina das proteínas; agente oxidante |
| Octenidina   | Antisséptico tópico  | Destrói a membrana citoplasmática                           |
| <b>Esterilizantes, Desinfetantes e Sanitizantes<sup>e</sup></b>                                    |  |   |
| Álcool (etanol ou isopropanol 60-85%, em água) <sup>a</sup>  | Desinfetante de instrumentos médicos e superfícies laboratoriais   | Solvente de lipídeos e desnaturante de proteínas            |
| Detergentes catiônicos (compostos quaternários de amônio)  | Desinfetante e sanitizante de instrumentos médicos, equipamentos de indústrias de alimentos e laticínios | Interagem com fosfolipídeos                                 |
| Gás cloro  | Desinfetante para a purificação de redes distribuidoras de água  | Agente oxidante   |

|   |   |                                   |
|---|---|-----------------------------------|
| Compostos de cloro (cloraminas, hipoclorito de sódio, clorito de sódio, dióxido de cloro) | Desinfetante e sanitizante de equipamentos das indústrias de laticínios e alimentos, redes distribuidoras de água     | Agente oxidante                   |
| Sulfato de cobre  | Desinfetante algicida em piscinas e redes distribuidoras de água  | Precipitação de proteínas         |
| Óxido de etileno (gás)  | Esterilizante de materiais termolábeis, como plásticos e instrumentos com lentes                                      | Agente alquilante                 |
| Formaldeído   | Solução a 3%-8%, utilizada como desinfetante de superfícies, a 37% (formalina) ou vapor, utilizado como esterilizante | Agente alquilante                 |
| Glutaraldeído   | Solução a 2%, utilizada como desinfetante de alto nível ou esterilizante  | Agente alquilante                 |
| Peróxido de hidrogênio <sup>a</sup>   | Vapor utilizado como esterilizante  | Agente oxidante                   |
| Compostos de iodóforos, contendo iodo <sup>a</sup> (Wescodyne®)                           | Desinfetante de instrumentos médicos e superfícies laboratoriais  | Iodinação de resíduos de tirosina |
| Dicloreto mercúrico <sup>b</sup>  | Desinfetante de superfícies laboratoriais   | Interação com grupos -SH          |
| OPA (ortoftalaldeído)   | Desinfetante de alto nível para instrumentos médicos  | Agente alquilante                 |
| Ozônio  | Desinfetante de água potável  | Forte agente oxidante             |
| Ácido peroxiacético   | Solução utilizada como desinfetante de alto nível ou esterilizante  | Forte agente oxidante             |
| Compostos fenólicos <sup>b</sup>  | Desinfetante de superfícies laboratoriais   | Desnaturante de proteínas         |

<sup>a</sup>Alcoóis, peróxido de hidrogênio e compostos iodóforos contendo iodo podem agir como antissépticos, desinfetantes, sanitizantes ou esterilizantes, dependendo da concentração, tempo de exposição e forma de liberação.

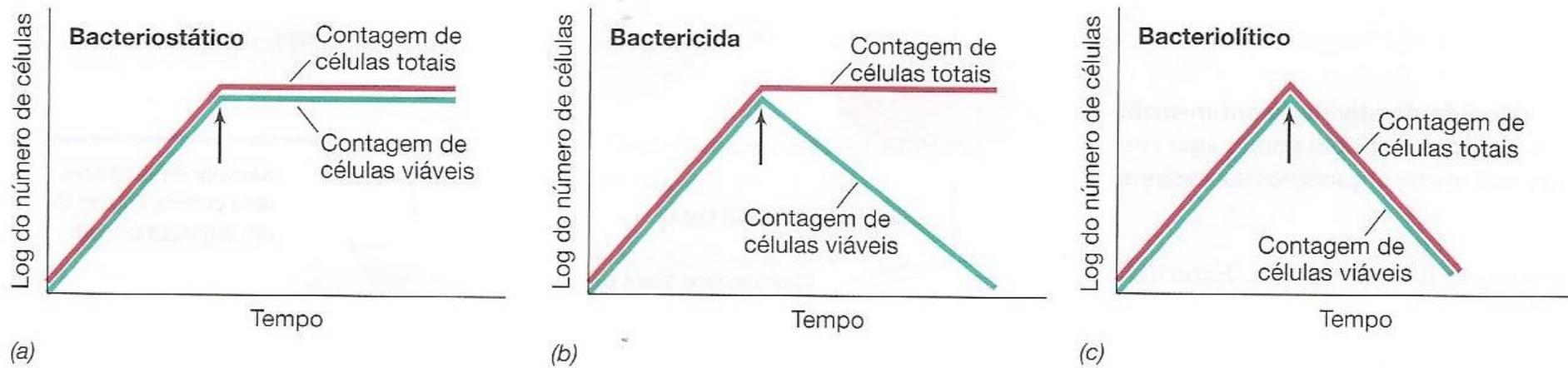
<sup>b</sup>Compostos de metal pesado (mercúrio) e compostos fenólicos originam produtos nocivos ao meio ambiente, podendo trazer risco à saúde.

<sup>c</sup>Vários compostos antimicrobianos solúveis em água, exceto aqueles contendo metais pesados, podem ser utilizados como sanitizantes de equipamentos e áreas de preparo da indústria de alimentos e laticínios, desde que seu uso seja acompanhado da drenagem adequada, antes do contato com o alimento.

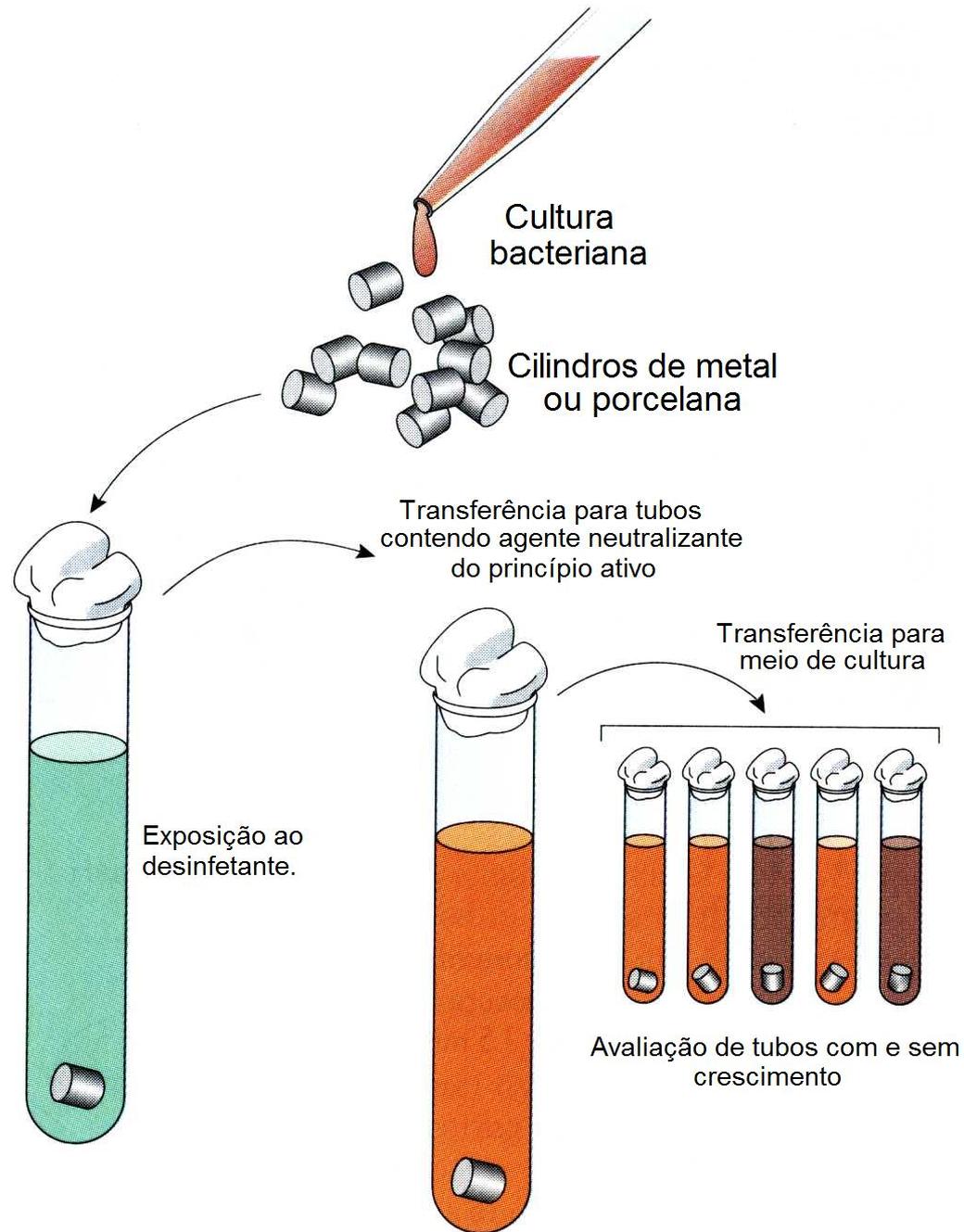
**Table 26.4** Industrial uses of antimicrobial chemicals

| <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   |

<sup>a</sup>Metallic (mercury, arsenic, and copper) compounds and phenolic compounds may produce environmentally hazardous waste products and create health hazards.

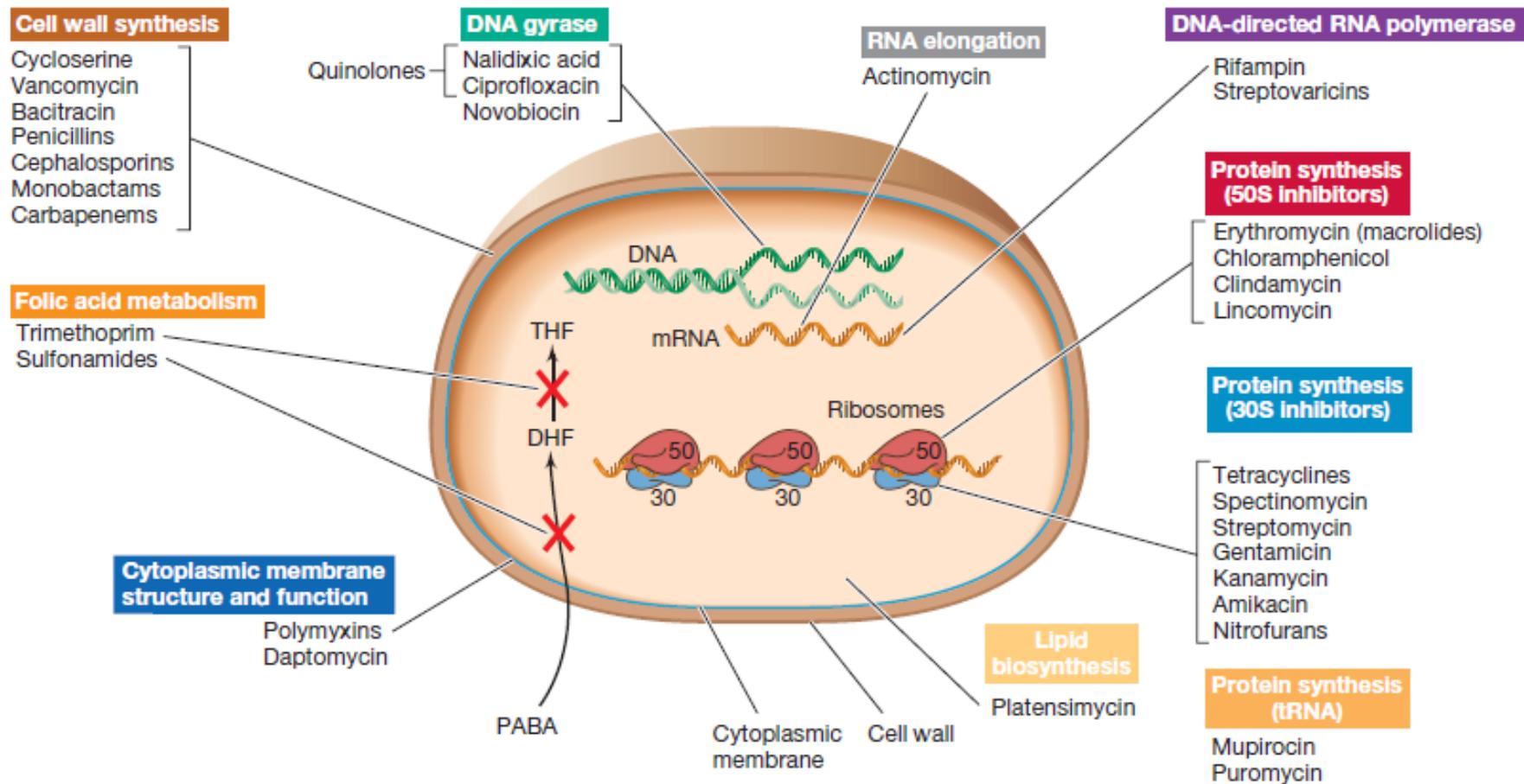


**Figura 27.9** Agentes antimicrobianos bacteriostáticos, bactericidas e bacteriolíticos. No tempo indicado pela seta, uma concentração de cada agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento foi adicionada a uma cultura em crescimento exponencial. Observe as relações entre as contagens de células totais e viáveis.

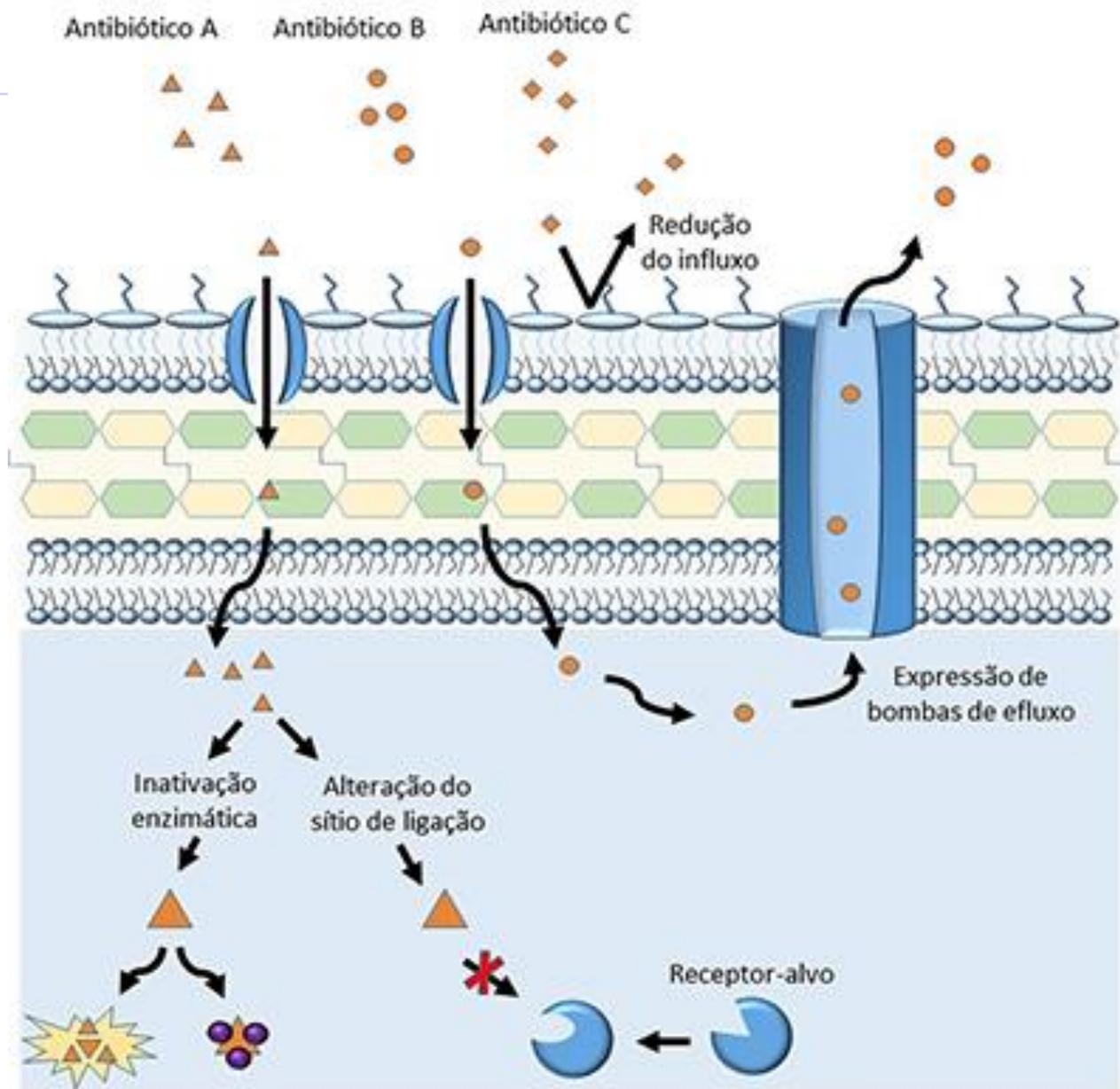


# Conceitos importantes:

**Antibióticos:** São agentes antimicrobianos produzidos por microrganismos. Antibióticos são produzidos por diversos fungos e bactérias e aparentemente têm a função de inibir ou matar outros microrganismos. Os antibióticos naturais podem ser modificados artificialmente para melhorar sua eficácia: estes são denominados antibióticos semi-sintéticos.



**Figure 26.12** Mode of action of some major antimicrobial agents. Agents are classified according to their target structures in the bacterial cell. THF, tetrahydrofolate; DHF, dihydrofolate; mRNA, messenger RNA.



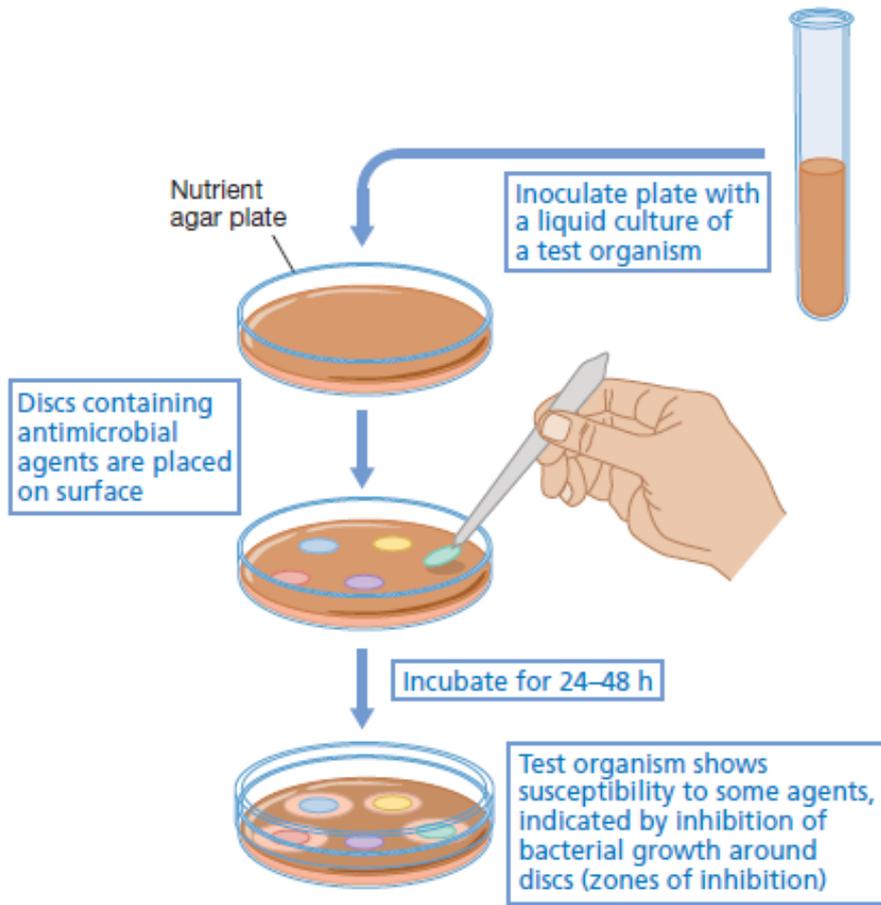
**Table 26.8 Bacterial resistance to antibiotics**

| <b>Resistance mechanism</b>  | <b>Antibiotic example</b> | <b>Genetic basis of resistance</b> | <b>Mechanism present in:</b>                                 |
|--|---------------------------|------------------------------------|--|
| Reduced permeability   | Penicillins               | Chromosomal                        | <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>Enteric Bacteria            |
| Inactivation of antibiotic<br>(for example, penicillinase;<br>modifying enzymes such<br>as methylases, acetylases,<br>phosphorylases, and<br>others) | Penicillins               | Plasmid and chromosomal            | <i>Staphylococcus aureus</i><br>Enteric Bacteria             |
|  | Chloramphenicol           | Plasmid and chromosomal            | <i>Neisseria gonorrhoeae</i><br><i>Staphylococcus aureus</i> |
|  | Aminoglycosides           | Plasmid                            | Enteric Bacteria<br><i>Staphylococcus aureus</i>             |
| Alteration of target<br>(for example, RNA<br>polymerase, rifamycin;<br>ribosome, erythromycin<br>and streptomycin; DNA<br>gyrase, quinolones)        | Erythromycin              | Chromosomal                        | <i>Staphylococcus aureus</i>                                 |
|  | Rifamycin                 |                                    | Enteric Bacteria   |
|  | Streptomycin              |                                    | Enteric Bacteria   |
|  | Norfloxacin               |                                    | Enteric Bacteria<br><i>Staphylococcus aureus</i>             |
| Development of resistant<br>biochemical pathway  | Sulfonamides              | Chromosomal                        | Enteric Bacteria<br><i>Staphylococcus aureus</i>             |
| Efflux (pumping out of cell)   | Tetracyclines             | Plasmid                            | Enteric Bacteria   |
|  | Chloramphenicol           | Chromosomal                        | <i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Bacillus subtilis</i>     |
|  | Erythromycin              | Chromosomal                        | <i>Staphylococcus</i> spp.                                   |

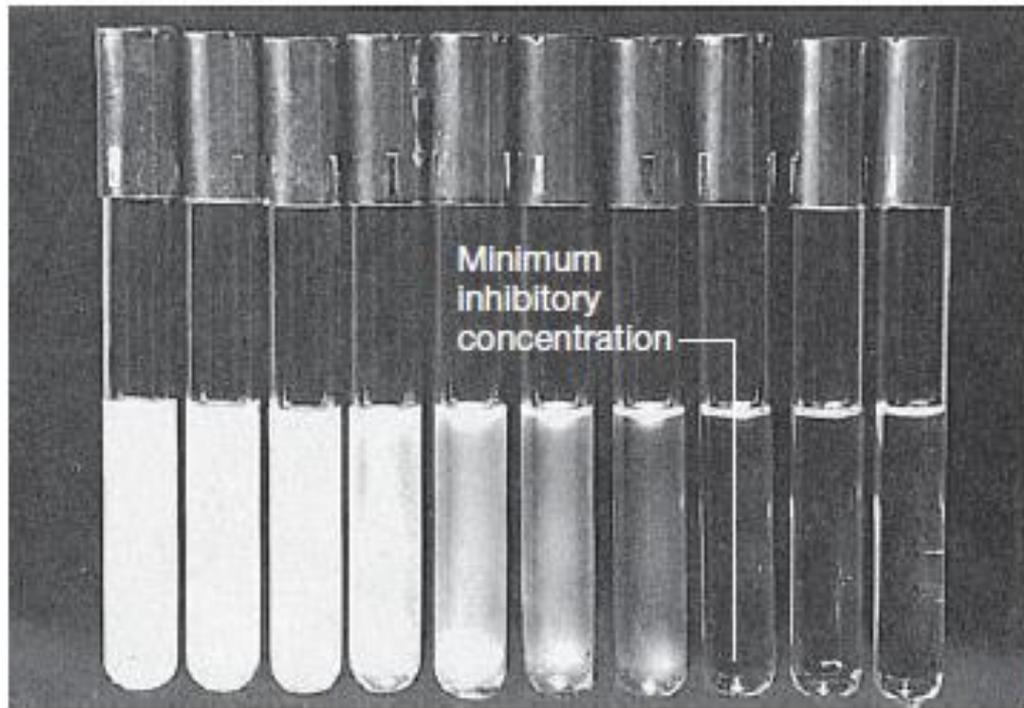


| PENICILINA   |   | INIBIDOR DA BETA-LACTAMASE | UTILIZAÇÃO  |
|--------------|---|----------------------------|---|
| AMOXICILINA  | + | CLAVULANATO                | <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> ,<br><i>Bacteroides fragilis</i>                                  |
| AMPICILINA   | + | SULBACTAM                  | <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> ,<br><i>Bacteroides fragilis</i> +<br><i>Pneumonia aspirativa</i> |
| TICARCILINA  | + | CLAVULANATO                | Bom para<br><i>Pseudomonas</i> !  |
| PIPERACILINA | + | TAZOBACTAM                 | Bom para<br><i>Pseudomonas</i> !  |

# Antibiograma – difusão em agar.



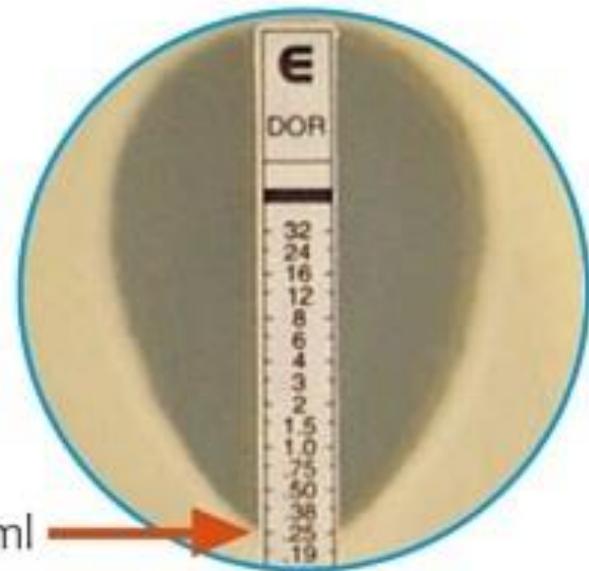
**Figure 26.11** Antimicrobial agent susceptibility assay using diffusion methods. The antimicrobial agent diffuses from paper disks into the surrounding agar, inhibiting growth of susceptible microorganisms.



T.D. Brock



**Figure 26.10** Antimicrobial agent susceptibility assay using dilution methods. The assay defines the minimum inhibitory concentration (MIC). A series of increasing concentrations of antimicrobial agent is prepared in the culture medium. Each tube is inoculated with a specific concentration of a test organism, followed by a defined incubation period. Growth, measured as turbidity, occurs in those tubes with antimicrobial agent concentrations below the MIC.



MIC 0.25 µg/ml