



Controle do crescimento microbiano por agentes físicos e químicos

Prof. Marcio Dias

mvbdias@usp.br

Livro recomendado para esta aula:

Microbiologia – Tortora, GJ, Funke, BR, Case CL. (a partir da 10 ed).

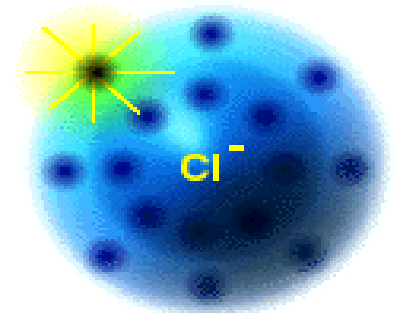
Controle de Microrganismos

**Agentes
Físicos**

**Agentes
Químicos**



Antimicrobianos



chloride ion

**Controle da
população
microbiana**

```
graph TD; A([Controle da população microbiana]) --> B[Destruir, inibir ou remover microrganismos]; B --> C[Agentes físicos]; B --> D[Agentes químicos]; C --> E[Microrganismos em números aceitáveis ou ausência dos mesmos]; D --> E;
```

The diagram is a flowchart illustrating the control of microbial population. It starts with a red oval at the top left containing the text 'Controle da população microbiana'. A light blue arrow points from this oval to a red-bordered rectangular box in the center containing the text 'Destruir, inibir ou remover microrganismos'. From this central box, two black arrows point downwards to two blue-bordered rectangular boxes: 'Agentes físicos' on the left and 'Agentes químicos' on the right. From the bottom of each of these two boxes, a blue arrow points downwards to a final red-bordered rounded rectangular box at the bottom containing the text 'Microrganismos em números aceitáveis ou ausência dos mesmos'.

**Destruir, inibir ou
remover
microrganismos**

Agentes físicos

Agentes químicos

**Microrganismos em números aceitáveis ou
ausência
dos mesmos**

Definições para o controle microbiano em relação ao processo

Esterilização: destruição de todas as formas de vida microbiana ;

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

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

Antissepcia 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



-Sulfixo – estático



-Sepse



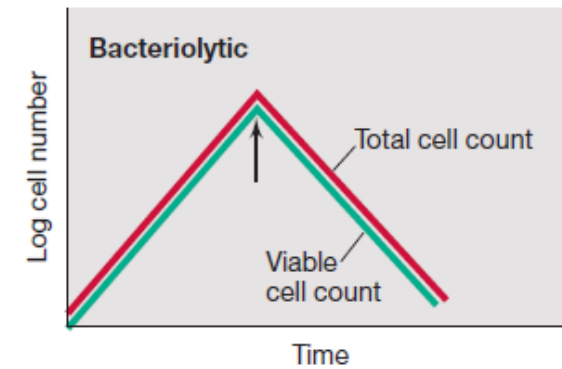
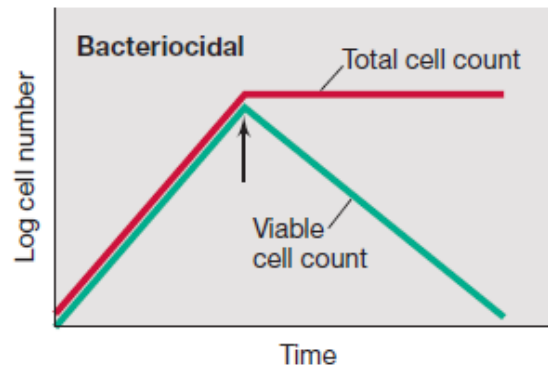
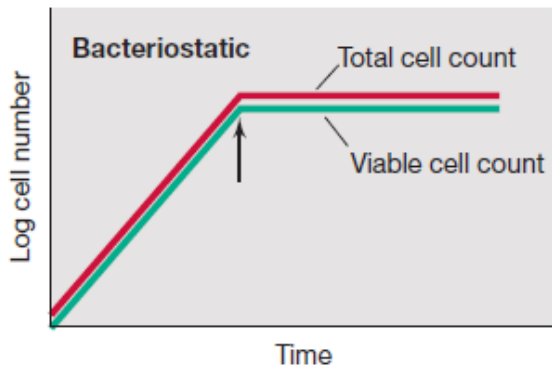
A maioria dos métodos de controle do crescimento bacteriano que “matam” os microrganismos, é devido a:

-oxidação de estruturas celulares

-desnaturação de proteínas

-desestruturação ou ruptura de membranas

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



Taxa de morte microbiana

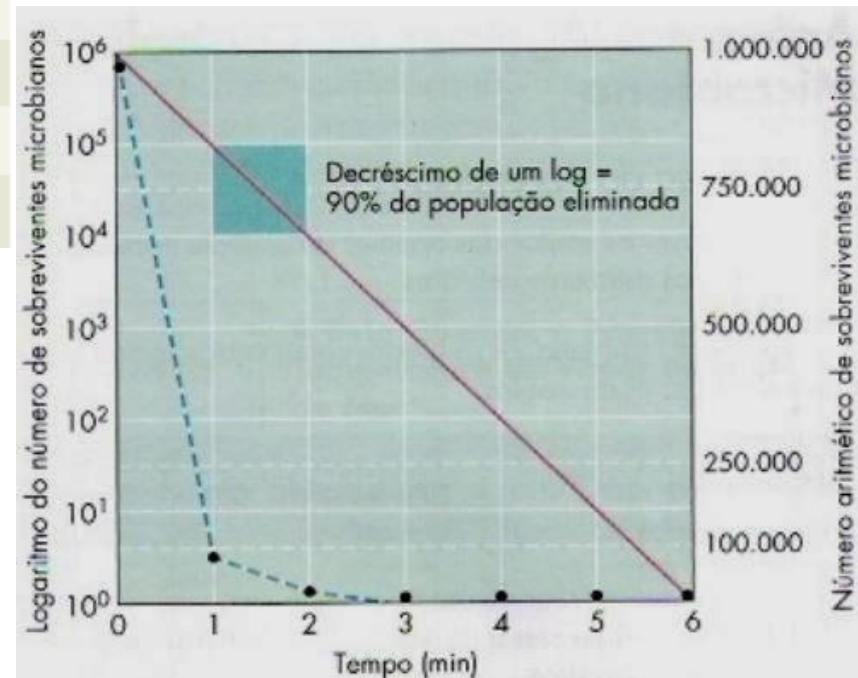
TABLE 7.2 Microbial Exponential Death Rate:
An Example

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

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 | 9,000 | 1,000 |
| 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 "estufados"?

Por que o leite de caixa dura mais que o "leite de saquinho"?



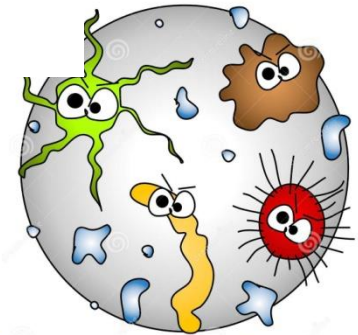
Fatores que influenciam na efetividade dos tratamentos antimicrobiano

-Número de micróbios



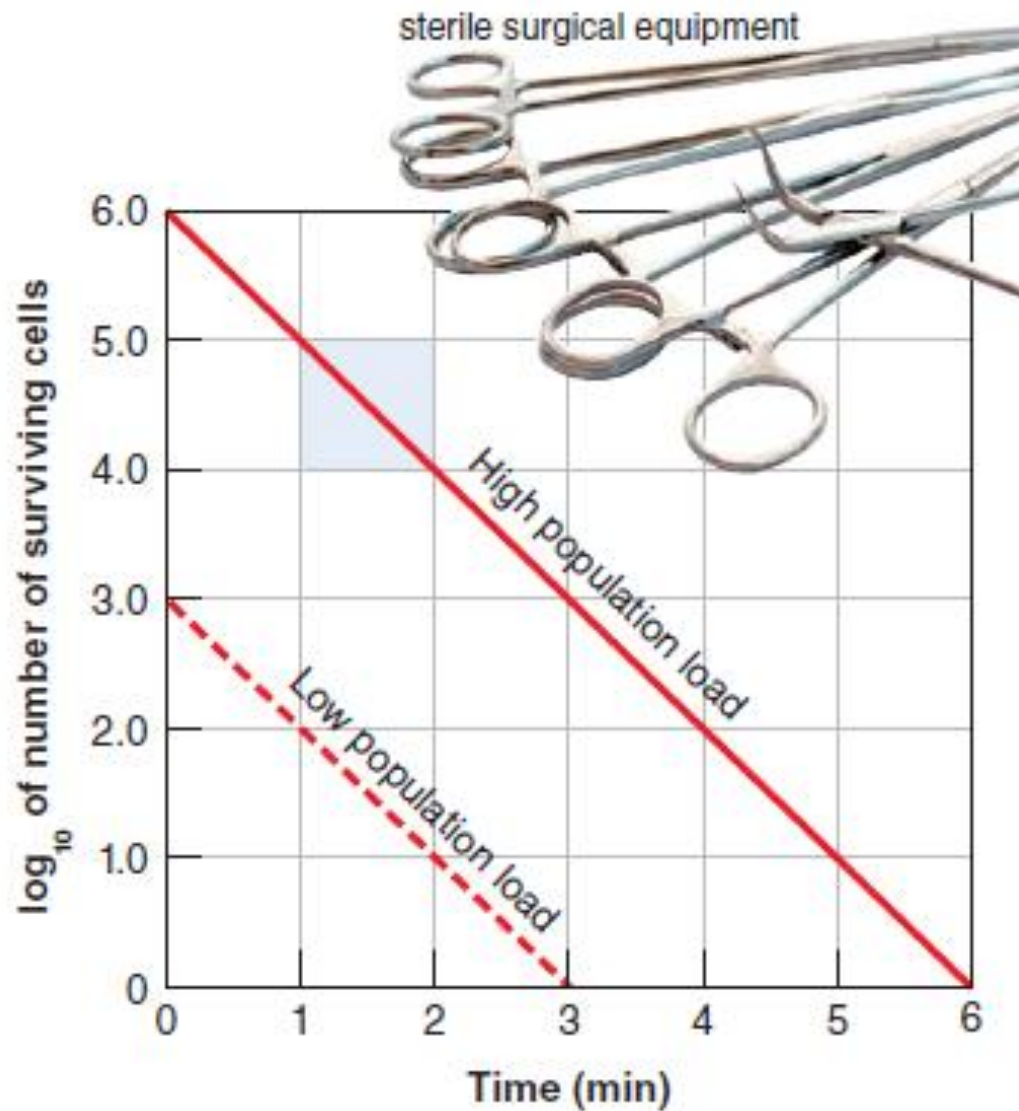
-Influências ambientais

-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

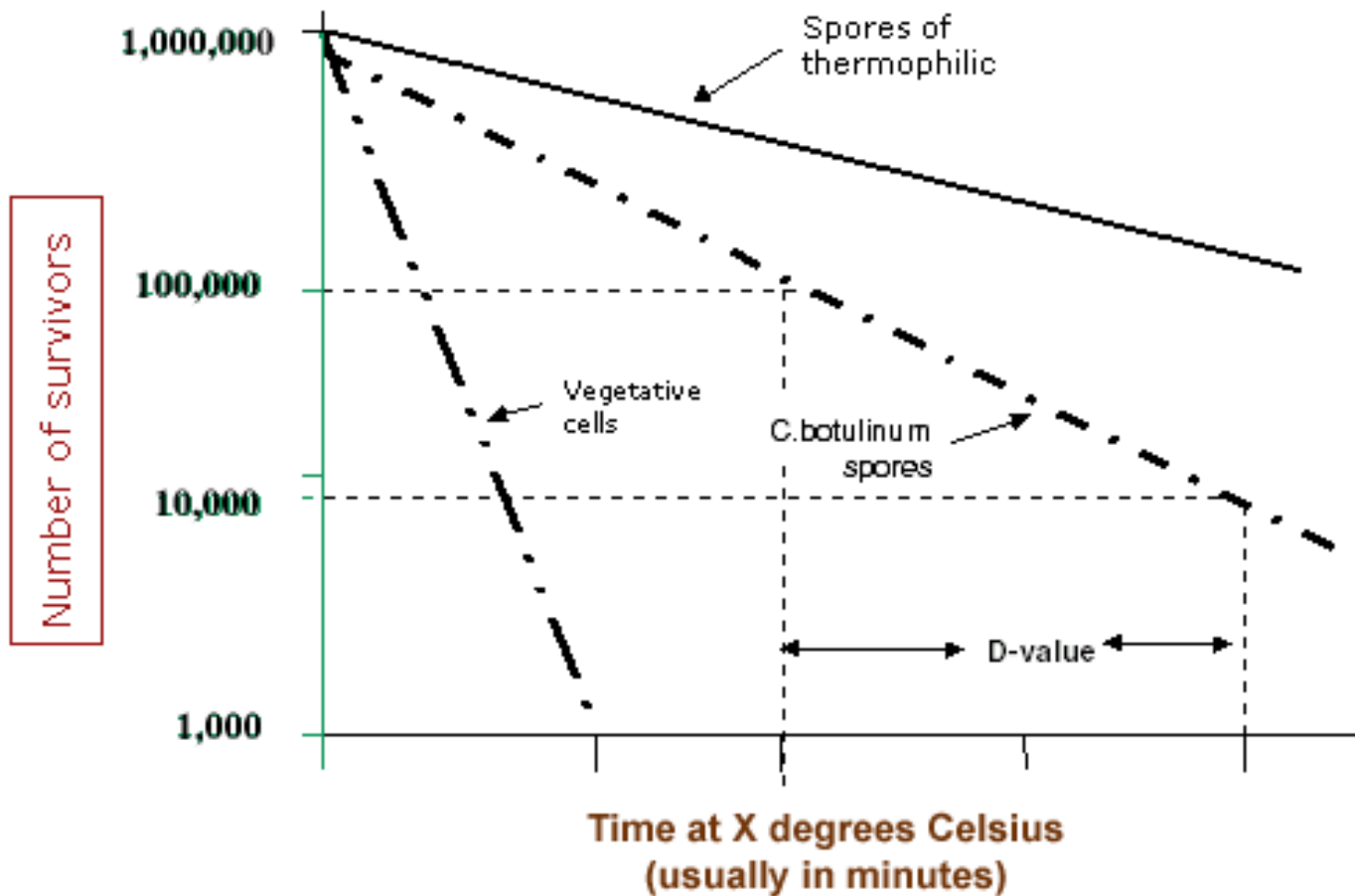
-Modo de ação????

Terminologia:

Ponto de morte térmica (MPT)

tempo de morte térmica (TMT)

Thermal Death Rate Curves



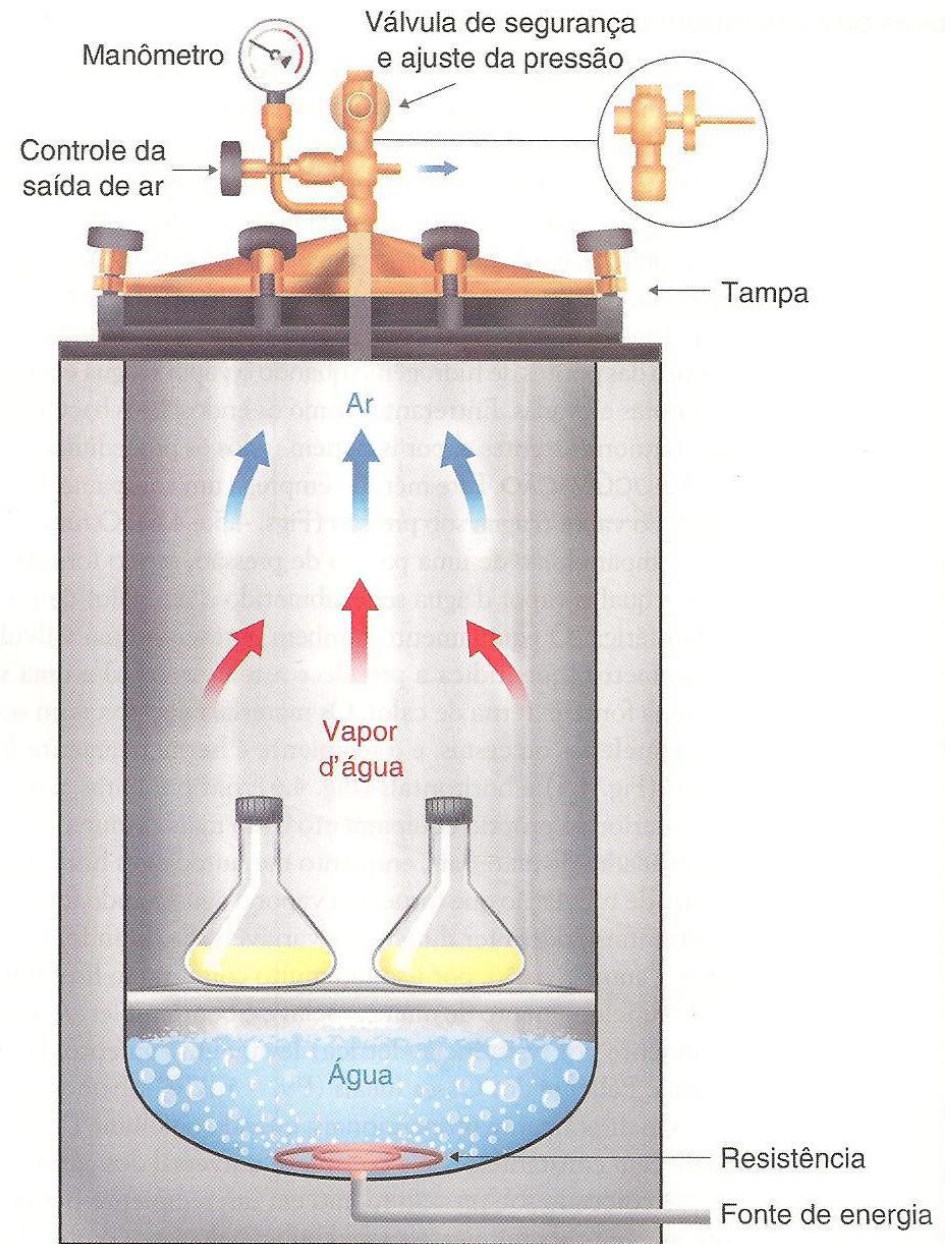
Calor Úmido

-fervura (100 °C por 15 minutos)

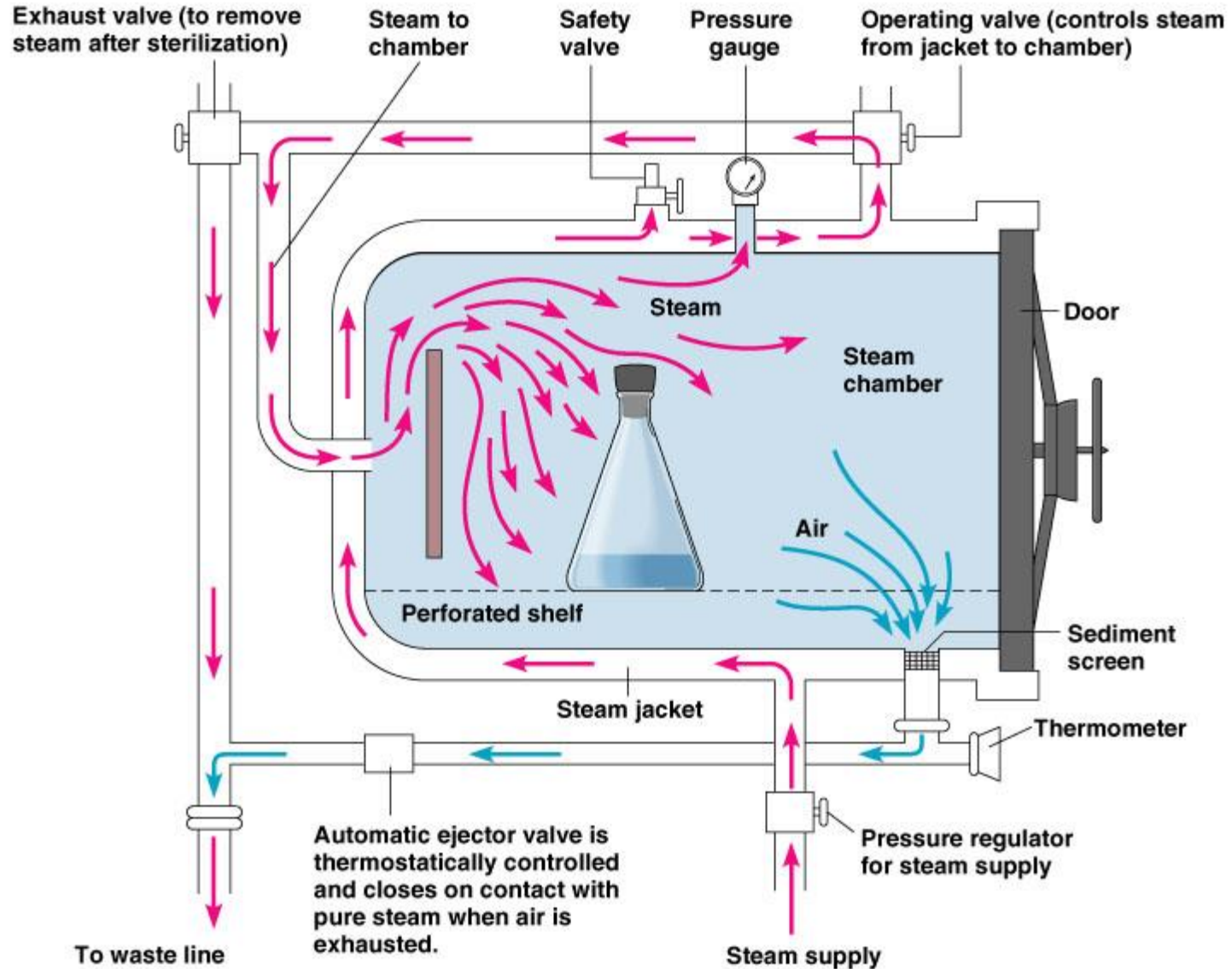
-autoclave (Vapor d'água sob pressão (121 ° C/15 minutos)



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

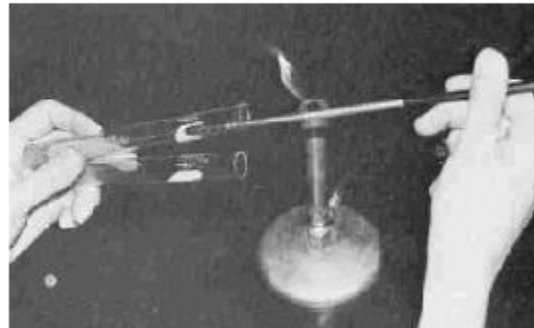
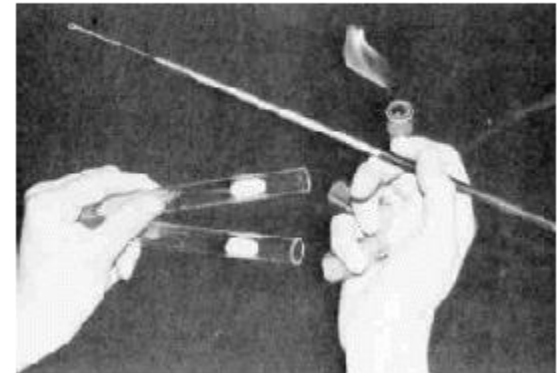
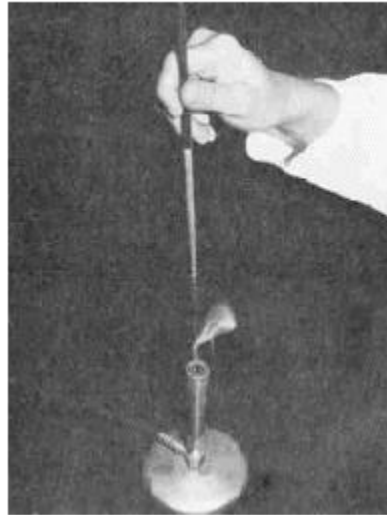
- Uso de pastilhas
- Suspensão de endósporos
- Indicativos de cor através de reações químicas



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 (oxidação);
- ✓ esterilização;
- ✓ lixo hospitalar, animais de experimentação.



Adaptado de:

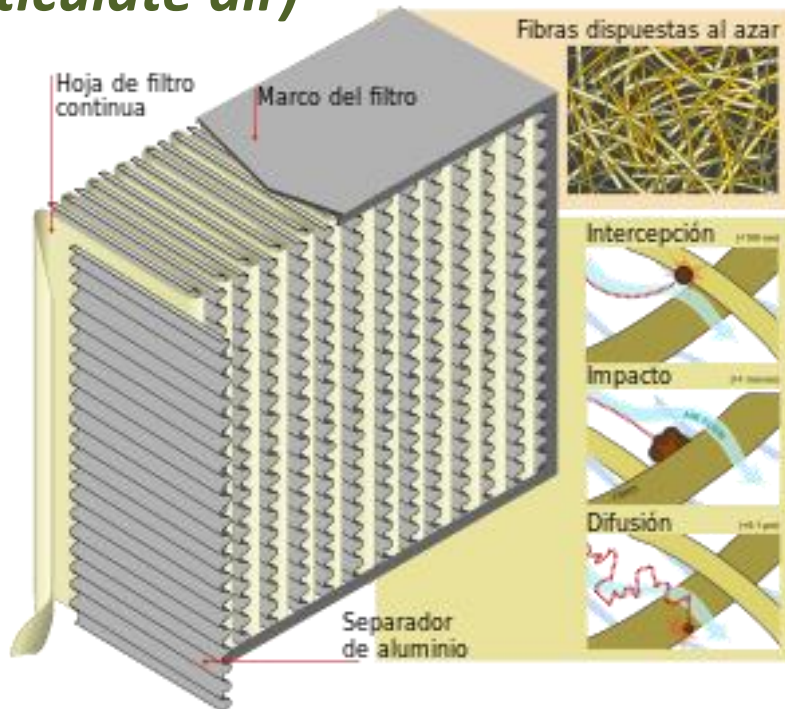
www.cibg.rj.gov.br/detalhenoticias.asp?codnot

Filtração

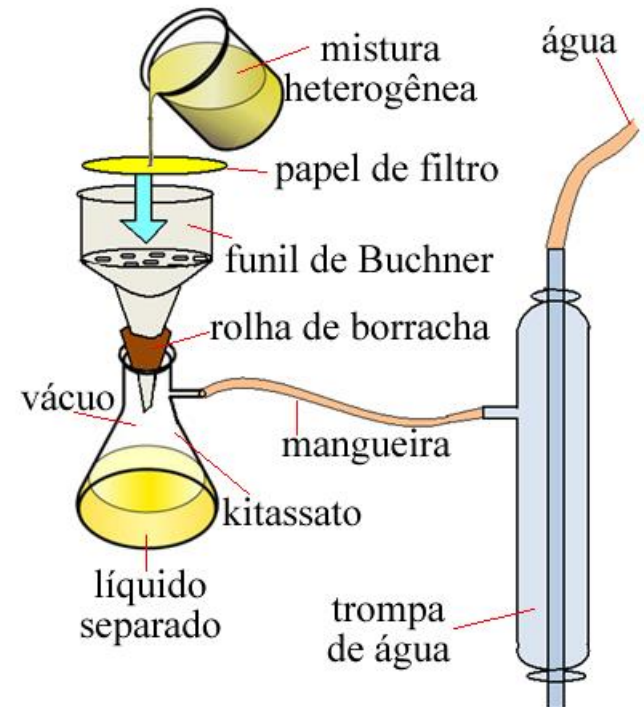
- Passagem de um líquido ou gás através de um material semelhante a uma tela, suficientemente pequenos para reter microorganismos.

- utilizada para realizar a esterilização de materiais sensíveis ao calor, como por exemplo enzimas.

Filtros HEPA (*high efficiency particulate air*)

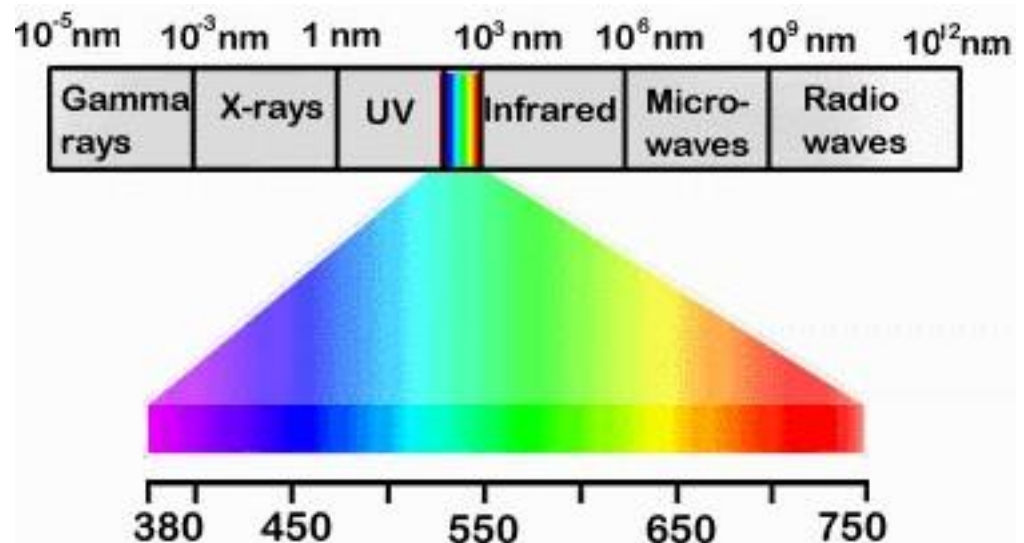
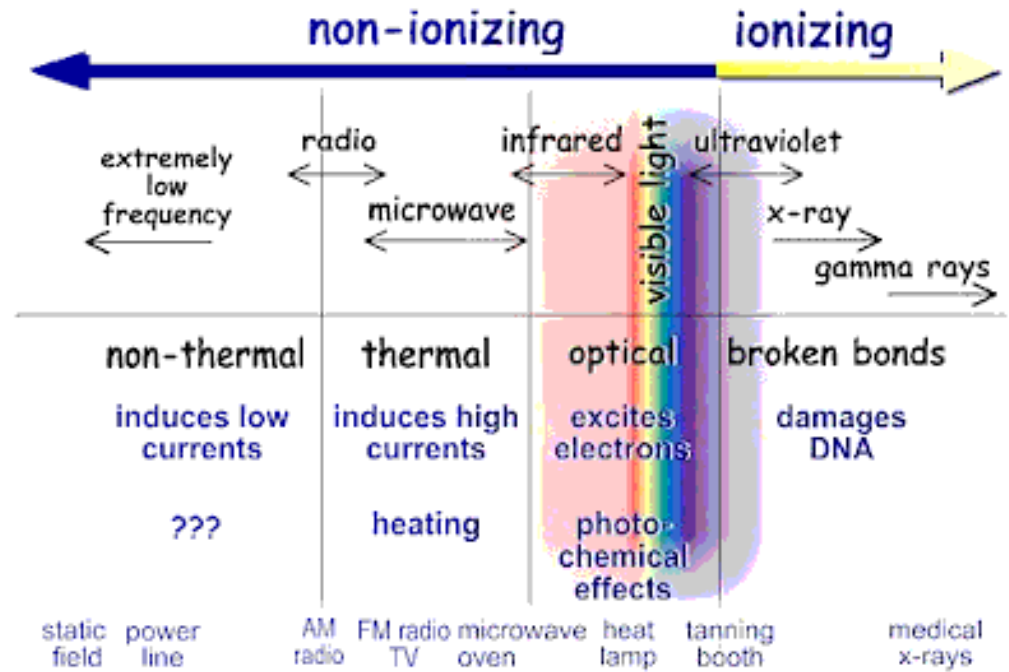


Filtros de membranas



Radiação

- ★ **Ionizante (raio X e γ)**
Destroem o DNA
- ★ **Não-ionizantes (UV)**
Alteram DNA através da formação de dímeros de pirimidinas



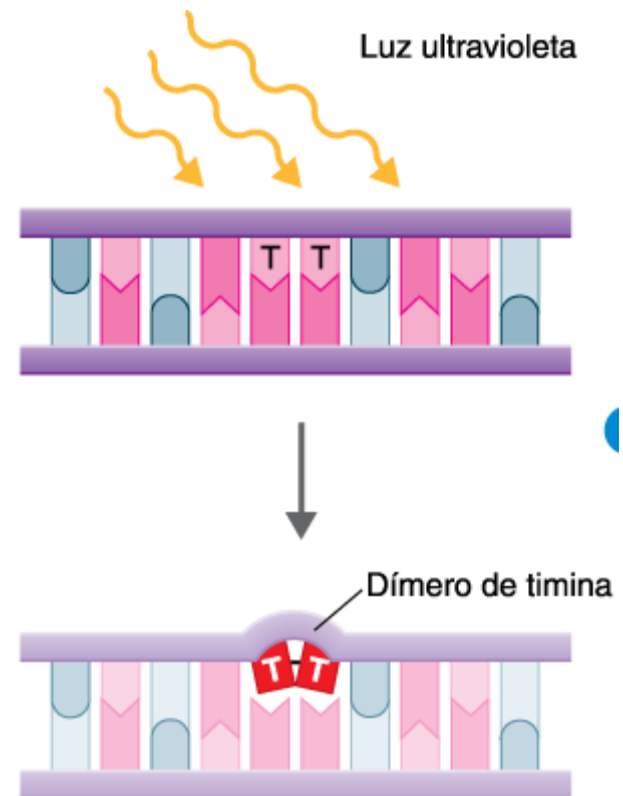
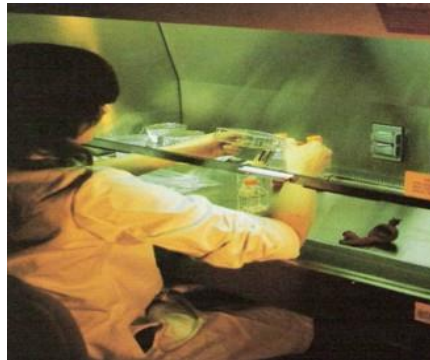
Radiação ionizante (raios gama, X e feixe de elétrons de alta energia)



- Causa a ionização da água formando radicais hidroxilas altamente reativos que causam mutações no DNA ou outras macromoléculas, principalmente alguns grupos dos aminoácidos de proteínas
- 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/uvscience.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.

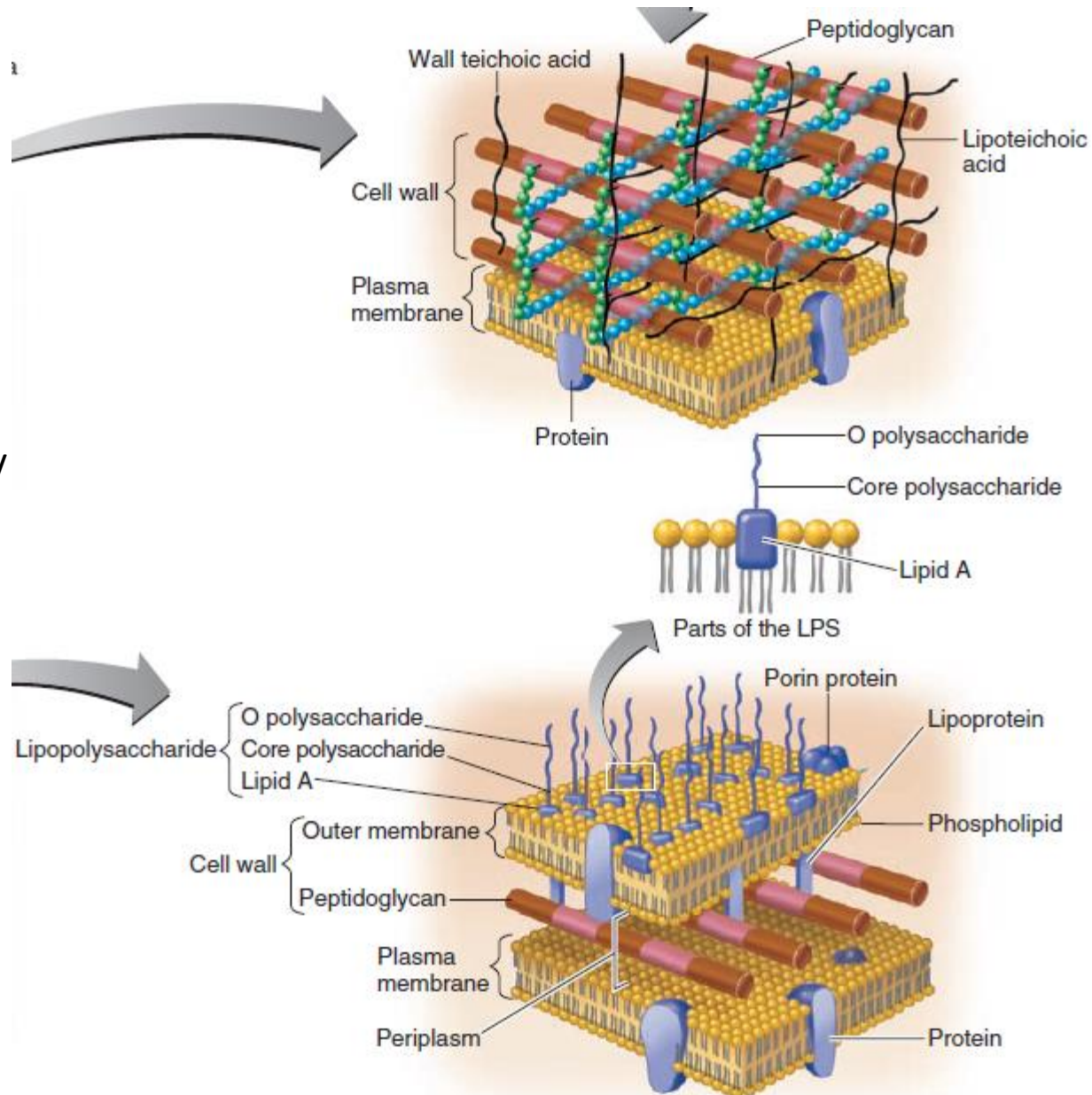
Alvo Dos Agentes Químicos

Parede Celular e membrana:

Alvo: Proteínas/Camada fosfolipídica/ Lipopolisacarídeos/ peptidoglicano

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

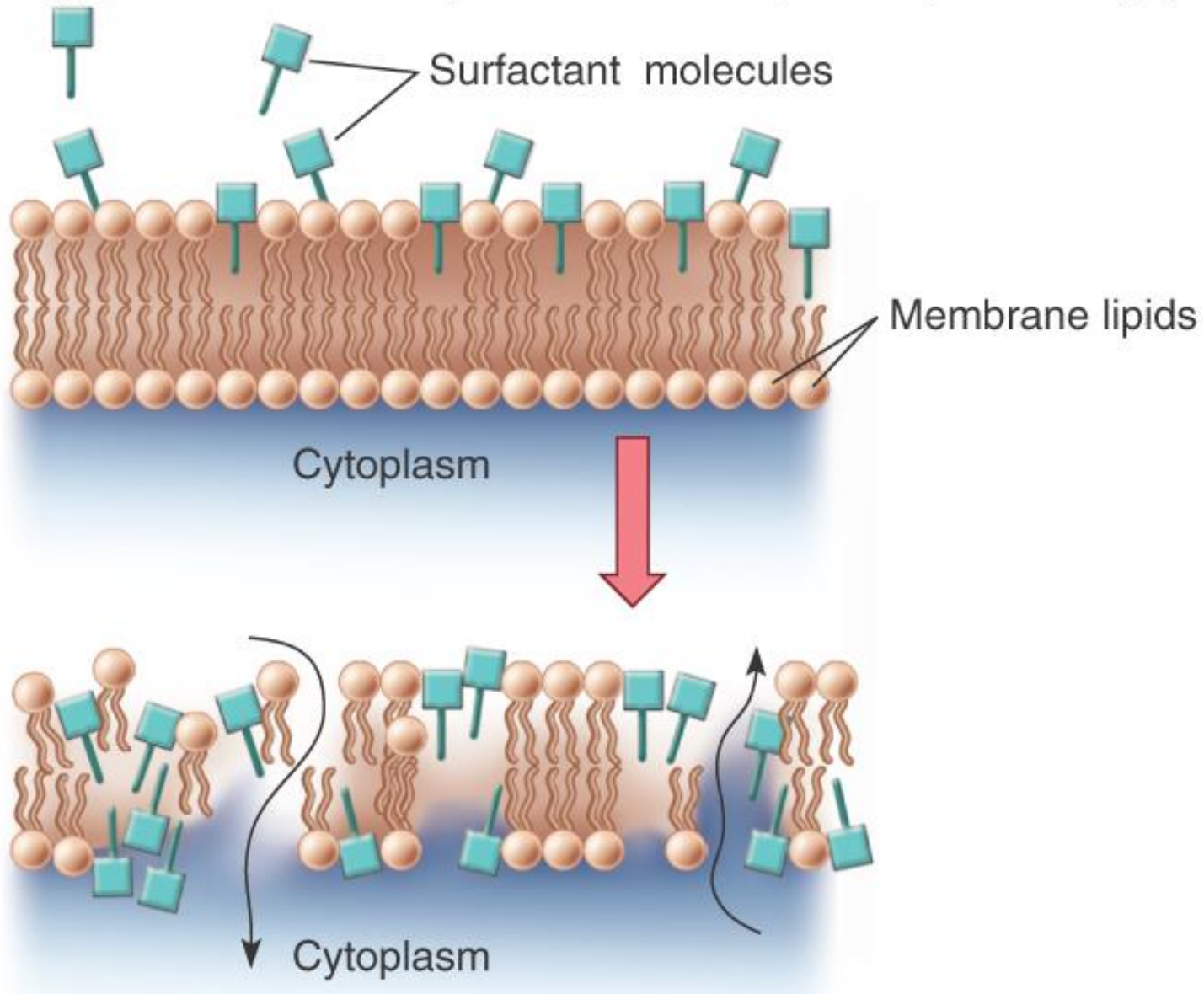
Causa: Afeta o crescimento celular e pode levar a morte.



Alvo Dos Agentes Químicos

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

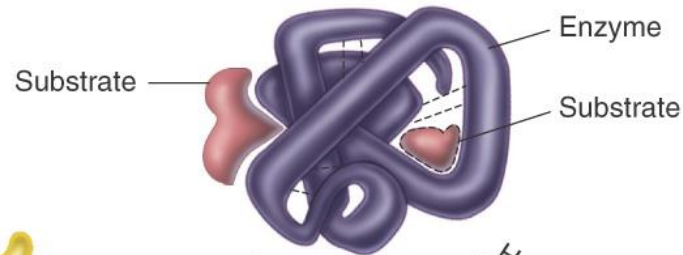
Exemplo:
Surfactantes



Alvo Dos Agentes Químicos

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

(a) Native State



(b) Complete Denaturation

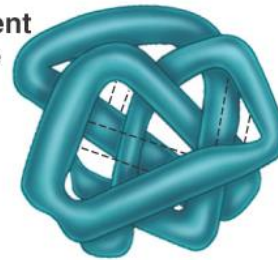


Heat
pH Change

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

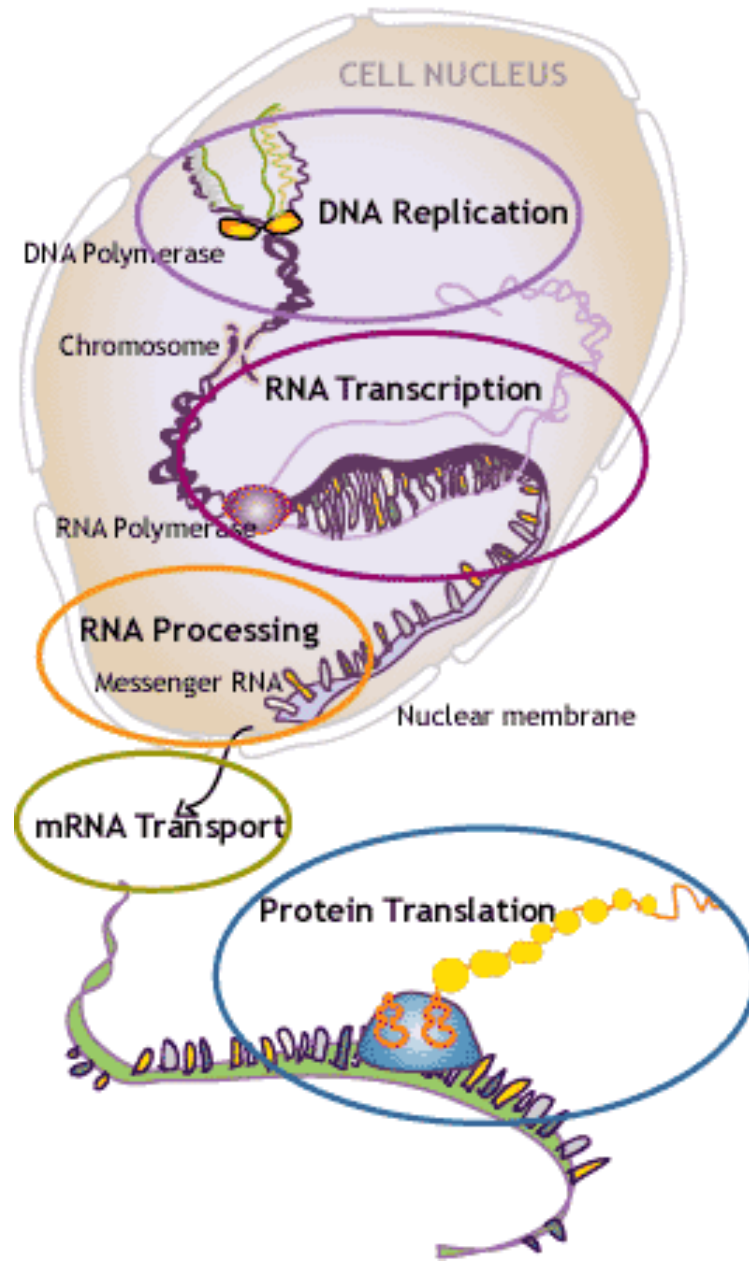
Alvo Dos Agentes Químicos

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



Mecanismos de ação

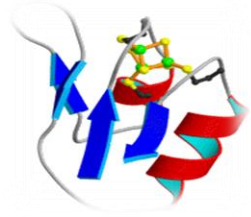
Alvos letais



Permeabilidade da membrana

Inibir metabolismo

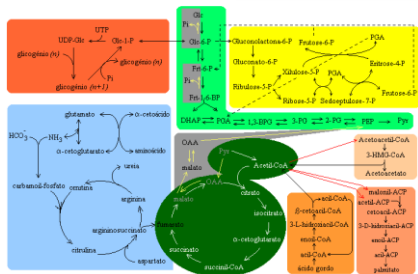
Inibir síntese de ác. nucleicos



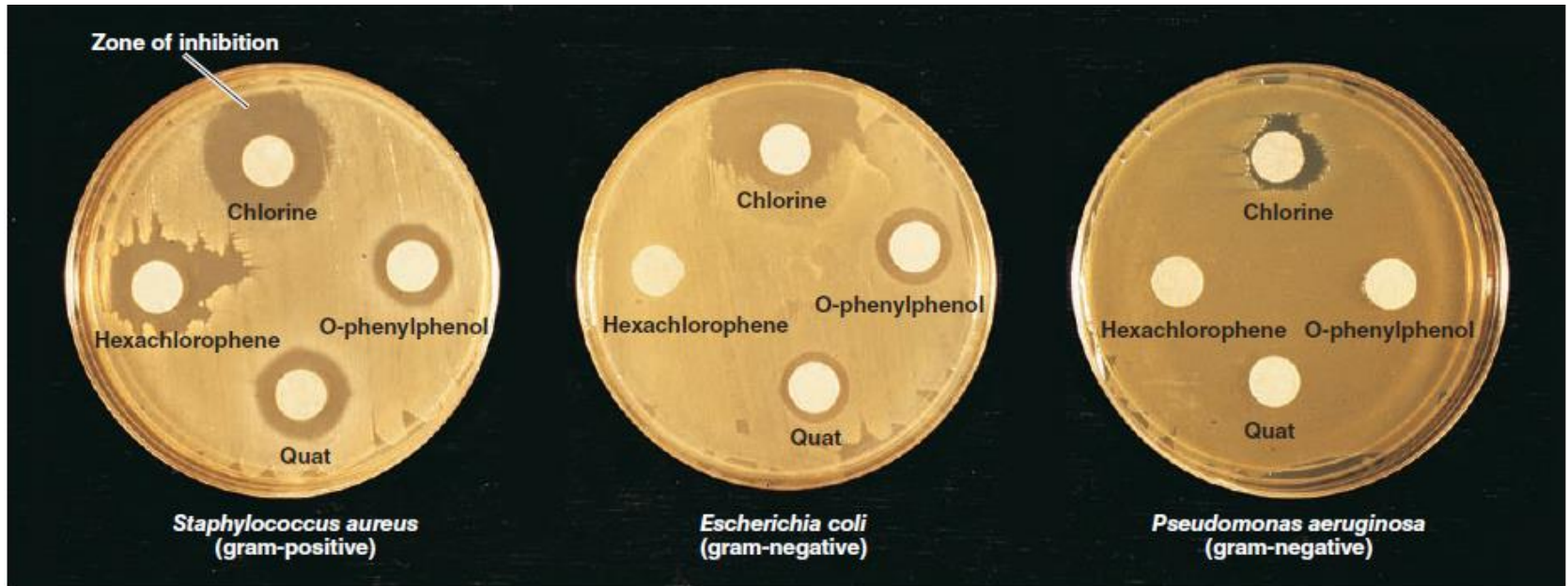
Desnaturação proteínas



Oxidação



Métodos para estimativa da eficácia dos agentes químicos



-A atividade de uma substância pode ser testada pelos métodos de uso-diluição ou de disco-difusão

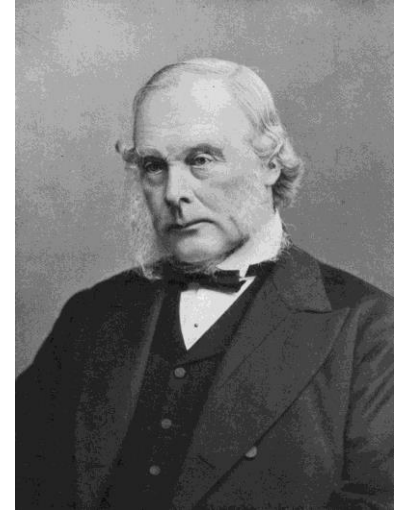
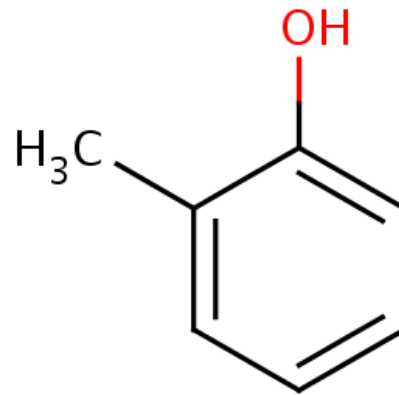
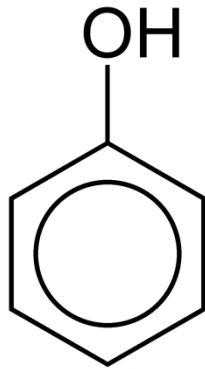
-Para que utilizar métodos de controle químicos?

-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

Tipos de desinfetantes

Fenol e compostos fenólicos



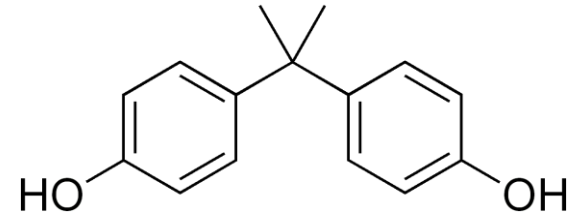
Sr Joseph Lister, 1827-1912



Fenol e Fenólicos

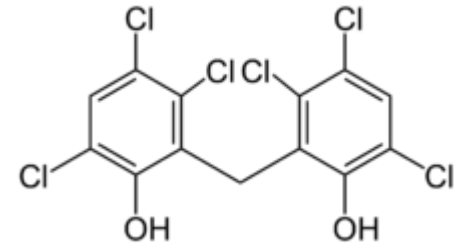
- **Usado no controle de infecção em mesas cirúrgicas**
- **1% fenol tem ação antibacteriano forte**
- **Age na membrana plasmática – ocasionando o vasamento do conteúdo celular – Morte celular.**
- **Estável e não afetado por compostos orgânicos**
 - Desinfecção de pus, saliva, fezes.
- **Raramente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

Bisfenóis



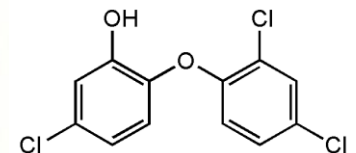
pHisoHex

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

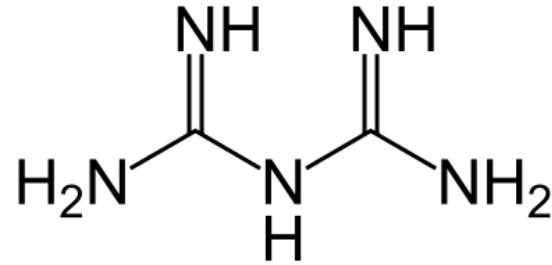


Triclosano

- 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



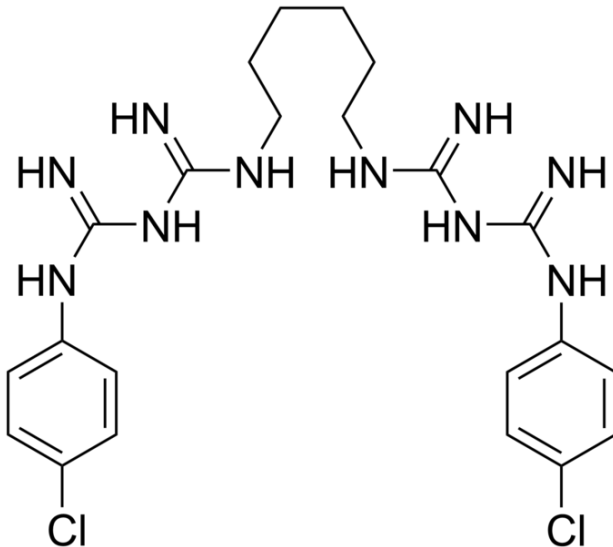
Biguanidas





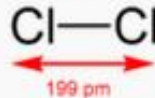

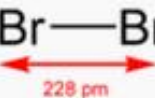

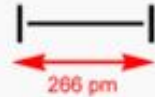

-controle microbiano de pele e mucosas

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

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



Halogênios (iodo e cloro)

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

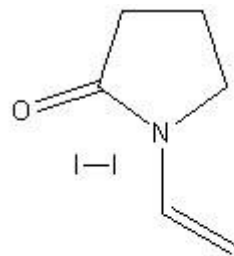
- Alta Eletronegatividade: Rouba e⁻, principalmente o flúor
- Agentes Oxidantes

Iodo

-disponível na forma de tinturas –
solução de álcool aquoso

-geralmente como iodóforo – combinação
de iodo e molécula orgânica

usado para tratamento de feridas

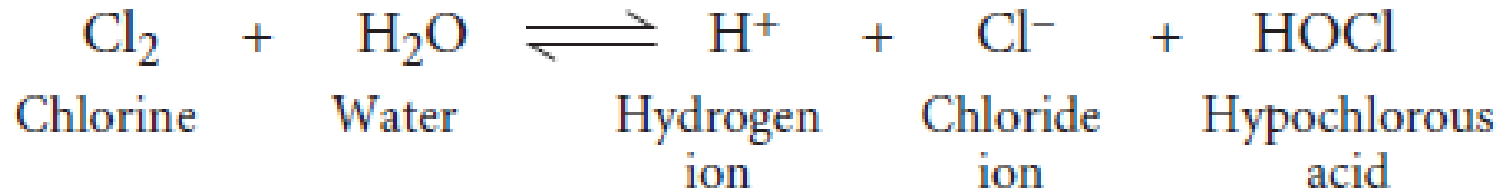


betadine
(povidone iodine complex)
 $C_8H_9I_2NO$

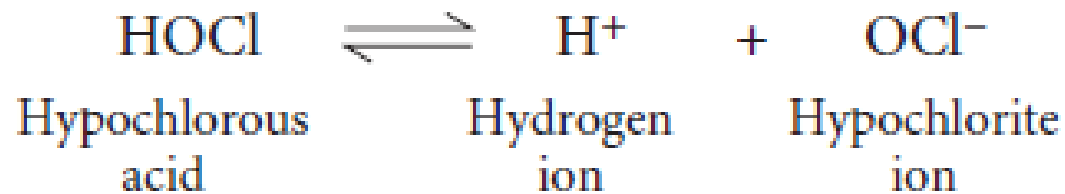


Cloro

(1)



(2)



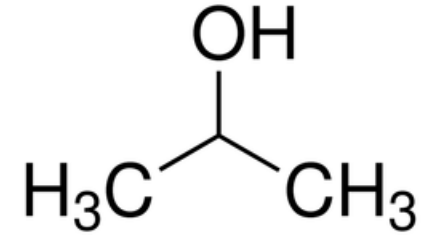
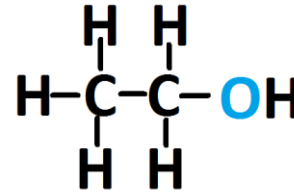
- atua como agente oxidante impedindo a maquinaria celular
- Formas gasosas também podem ser usadas como o dióxido de cloro



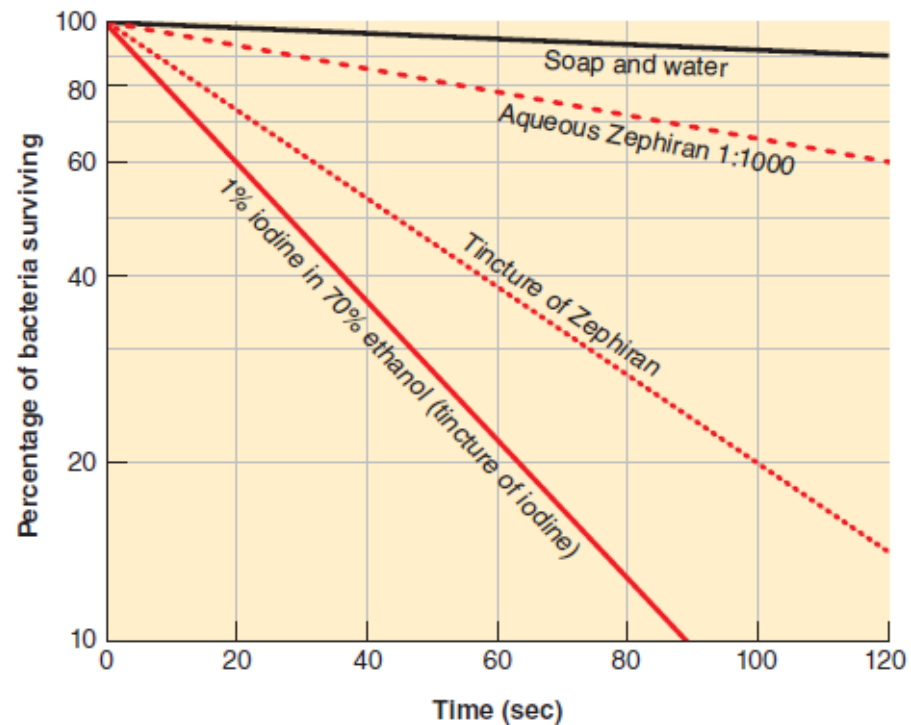
4. Halogênios e derivados

- 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

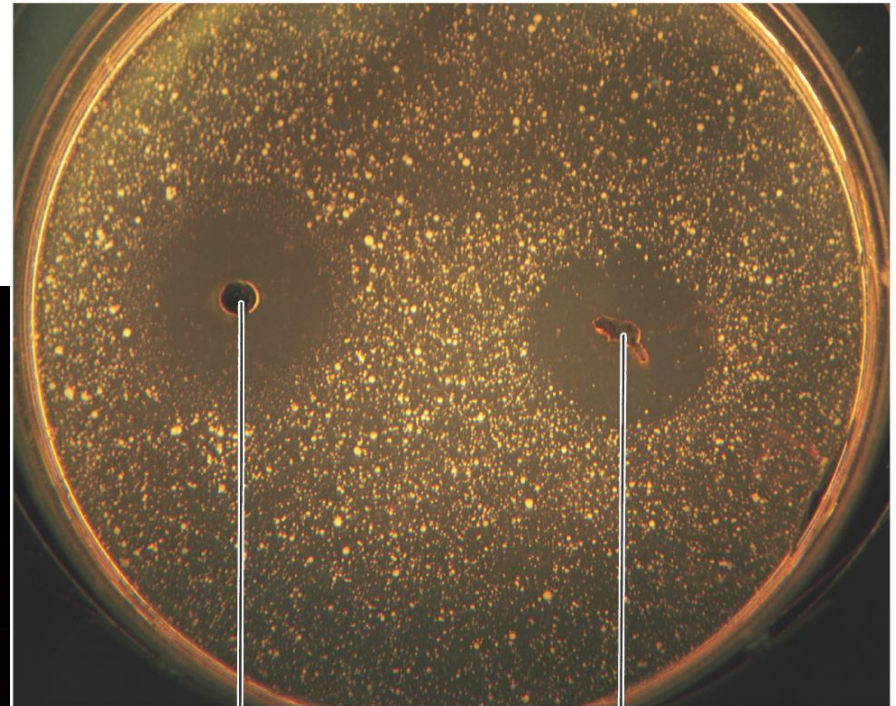
Mercúrio

Cobre

Zinco – comum em soluções para bocheço

Geralmente o efeito se dá por ação oligodinâmica – atua sobre proteínas- inativando-as

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



Silver amalgam

Gold foil

© Kathy Park Talaro/Visuals Unlimited



McGraw-Hill

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

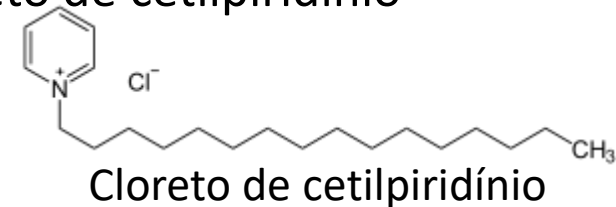


Catiônicos CQA

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

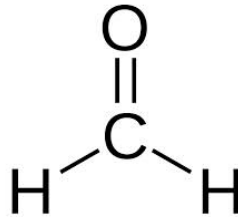
Ex.: cloreto de benzetônio, cloreto de benzalcônio, cloreto de cetilpiridínio (Cepacol).



Pouco tóxico

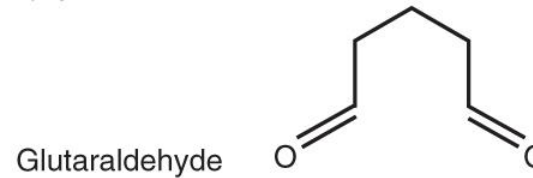
desinfetantes domésticos e hospitalares e anti-sépticos

Aldeídos

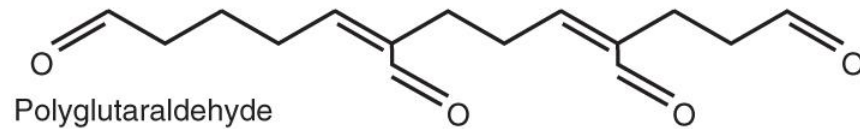


Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Per

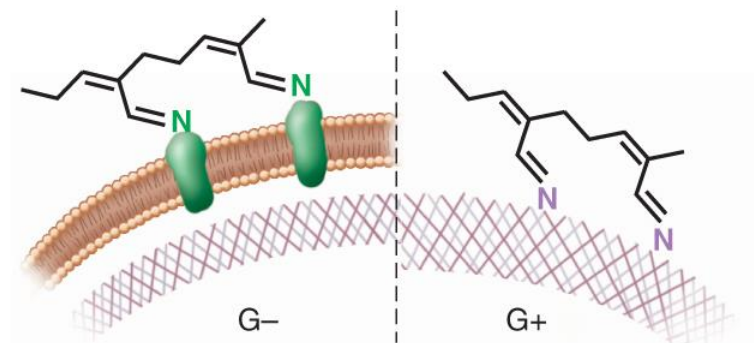
- É um dos mais efetivos
- Inativa Proteínas – ligações cruzadas entre grupos de amidas (Lisina) e sulfidrilas (cisteínas)



Polymerization



Cross-linking with microbial protein



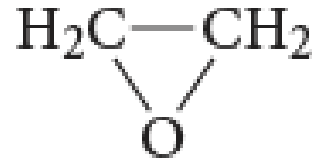
Amino groups in peptidoglycan

Formaldeído & Glutaraldeído

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

Gases Químico-esterilizantes

- Esterilizam em câmeras
 - Óxido de Etileno



Peróxido de hidrogênio esterilizador a plasma - médica
esterilização gabinete

Gás H_2O_2 + radio frequência ou microondas
= Produz radicais livres

- Ação Bactericida 4-18h:

Desnaturação de Proteínas

- Os hidrogênios lábeis (C, 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)



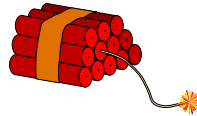
Óxido de etileno

Gás → vapores
irritantes para mucosas

Líquido: abaixo de 12° C

Combinado a :

Oxigênio:



CO₂ e freon:



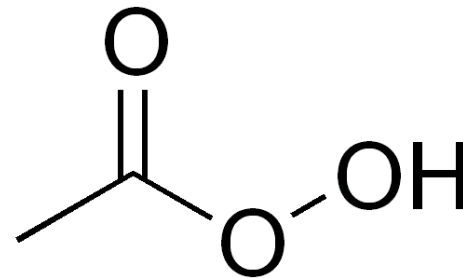
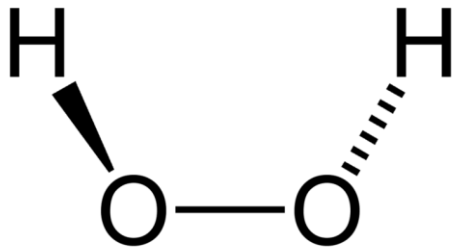
Vantagem: alto poder de penetração

Desvantagem: baixa velocidade de ação



Peroxigênios (agentes oxidantes)

- Agentes Oxidantes:
 - Desnaturação de Proteínas e Morte celular pela formação de espécies reativas de oxigênio
 - H_2O_2 - Antisséptico
 - Ácido Peracético - Esterilizante



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



BEBENDO ENTÃO VOCE FICA QUASE IMORTAL!!!