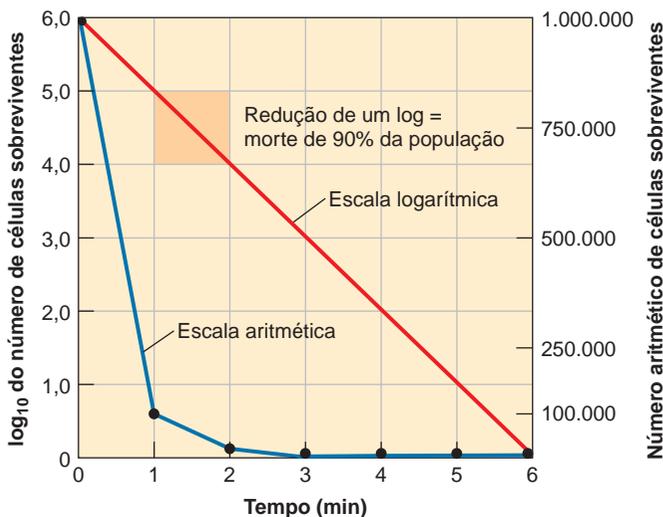


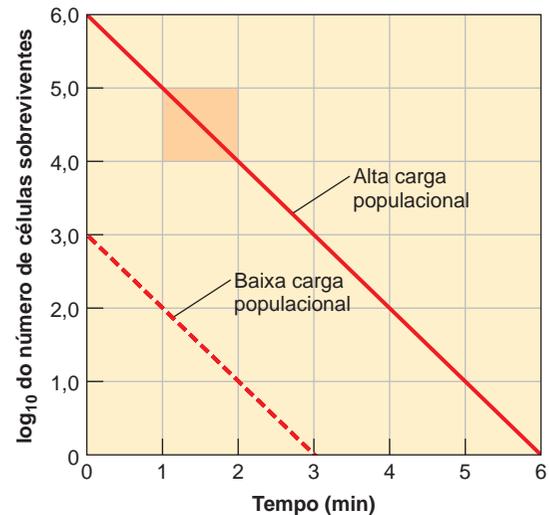
Figura 7.1

## FIGURA FUNDAMENTAL Uma curva de morte microbiana

O conceito de uma curva de morte para populações microbianas, incluindo os elementos de tempo e tamanho da população inicial, é especialmente útil na preservação de alimentos e na esterilização de meios de cultura ou materiais médicos.



(a) Os dados são plotados logarítmica (linha vermelha) e aritmeticamente (linha azul). Este gráfico foi construído de modo que as escalas logarítmica e aritmética coincidam em dois pontos: em uma célula e em 1 milhão de células. Neste exemplo, as células estão morrendo a uma taxa constante de 90% a cada minuto. Note que a tentativa de plotar a população de forma aritmética não é prática; aos três minutos, a população de 1.000 células seria apenas um centésimo da distância gráfica entre 100.000 e a linha de base. Números logarítmicos são necessários para demonstrar adequadamente esta situação em gráficos, mesmo com nossa percepção simplificada da situação.



(b) Efeito da alta ou baixa carga microbiana inicial. Se a taxa de morte for constante, será necessário um maior tempo para matar todos os indivíduos de uma população maior que os de uma menor. Isto é verdade tanto para os tratamentos que usam calor quanto para os químicos.

### Conceito-chave

É necessário usar números logarítmicos para a construção efetiva de gráficos de populações microbianas. Curvas de morte logarítmicas podem demonstrar, por exemplo, os efeitos do tamanho inicial da população no tempo necessário para atingir a esterilidade.

## Danos às proteínas e aos ácidos nucleicos

As bactérias algumas vezes são vistas como “pequenos sacos de enzimas”. As enzimas, que são principalmente proteínas, são vitais para todas as atividades celulares. Lembre-se de que as propriedades funcionais das proteínas resultam de sua forma tridimensional (veja a Figura 2.15, página 46). Essa forma é mantida por ligações químicas que unem as porções adjacentes da cadeia de aminoácidos onde ela se dobra sobre si mesma. Algumas dessas ligações são ligações de hidrogênio, que são suscetíveis ao rompimento pelo calor ou por certos produtos químicos; o rompimento resulta em desnaturação da proteína. As ligações covalentes, que são mais fortes, também estão sujeitas ao ataque. Por exemplo, as pontes dissulfeto, que desempenham um papel importante na estrutura das proteínas ao unir os aminoácidos com grupos sulfidril expostos (-SH), podem ser rompidas por certos produtos químicos ou calor suficiente.

Os ácidos nucleicos DNA e RNA são os transportadores da informação genética celular. Danos a esses ácidos nucleicos por calor, radiação ou substâncias químicas frequentemente são letais para a célula, que não pode mais se replicar, nem realizar funções metabólicas normais como a síntese de enzimas.

### TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Um agente químico de controle microbiano que afeta a membrana plasmática de micro-organismos também é capaz de afetar os humanos? **7-3**

## Métodos físicos de controle microbiano

### OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 7-4** Comparar a efetividade do calor úmido (fervura, autoclave, pasteurização) e calor seco.

**7-5** Descrever como a filtração, as baixas temperaturas, a alta pressão, a dessecação e a pressão osmótica suprimem o crescimento microbiano.

**7-6** Explicar como a radiação mata as células.

Já na Idade da Pedra, é provável que os seres humanos utilizassem algum método físico de controle microbiano para preservar os alimentos. A secagem (dessecação) e o uso do sal (pressão osmótica) provavelmente estiveram entre as técnicas iniciais.

Ao selecionar métodos de controle microbiano, deve-se considerar os efeitos desses métodos sobre outras coisas, além dos micro-organismos. Por exemplo, certas vitaminas ou antibióticos em uma solução podem ser inativados pelo calor. Muitos materiais de laboratório ou hospitalares, como as sondas de borracha e látex, são danificados por ciclos repetidos de aquecimento. Existem também considerações econômicas; por exemplo, pode ser mais barato usar instrumentos plásticos pré-esterilizados, descartáveis, do que lavar e reesterilizar repetidamente objetos de vidro.

## Calor

Uma visita a qualquer supermercado demonstrará que a preservação pelo uso de calor em alimentos enlatados representa um dos métodos mais comuns de conservação de alimentos. Meios de cultura e vidrarias de laboratório, assim como muitos instrumentos hospitalares, também são normalmente esterilizados pelo calor. O calor aparentemente mata os micro-organismos pela desnaturação de suas enzimas, que resulta em mudanças na forma tridimensional dessas proteínas, inativando-as (veja a Figura 5.6, página 119).

A resistência ao calor varia entre diferentes micro-organismos; estas diferenças podem ser expressas pelo conceito de ponto de morte térmica. O **ponto de morte térmica (PMT)** é a menor temperatura em que todos os micro-organismos em uma suspensão líquida específica serão mortos em 10 minutos.

Outro fator a ser considerado na esterilização é o tempo requerido para o material se tornar estéril. Esse período é expresso como **tempo de morte térmica (TMT)**, o tempo mínimo em que todas as bactérias em uma cultura líquida específica serão mortas, em uma dada temperatura. Ambos o PMT e o TMT são orientações úteis, que indicam a severidade do tratamento necessário para matar uma dada população de bactérias.

O **tempo de redução decimal (TRD, ou valor D)** é o terceiro conceito relacionado à resistência bacteriana ao calor. TRD é o tempo, em minutos, em que 90% de uma população de bactérias em uma dada temperatura serão mortas (na Tabela 7.2 e na Figura 7.1a, o TRD é 1 minuto). No Capítulo 28, você irá encontrar uma aplicação importante do TRD para a indústria de enlatados. Veja a discussão sobre o tratamento 12D em alimentos enlatados no Capítulo 28.

## Esterilização por calor úmido

O calor úmido mata os micro-organismos principalmente pela coagulação proteica (desnaturação), que é causada pela ruptura de ligações de hidrogênio que mantêm as proteínas em sua estrutura tridimensional. Esse processo de coagulação é familiar a qualquer pessoa que já observou uma clara de ovo fritando.

Um tipo de esterilização por calor úmido é a fervura, que mata as formas vegetativas dos patógenos bacterianos, quase todos os

vírus, e os fungos e seus esporos dentro de cerca de 10 minutos, normalmente muito mais rápido. O vapor de fluxo livre (não pressurizado) é equivalente em temperatura à água fervente. Os endosporos e alguns vírus, contudo, não são destruídos tão rapidamente. Alguns tipos de vírus da hepatite, por exemplo, podem sobreviver a até 30 minutos de fervura, e alguns endosporos bacterianos podem resistir à fervura por mais de 20 horas. Desse modo, a fervura nem sempre é um procedimento confiável de esterilização. Contudo, a fervura breve, mesmo em altitudes elevadas, matará a maioria dos patógenos. O uso da fervura para sanitizar mamadeiras de bebê é um exemplo conhecido.

A esterilização confiável com calor úmido requer temperaturas mais elevadas que a da água fervente. Essas temperaturas elevadas são mais comumente obtidas por vapor sob pressão, em uma **autoclave (Figura 7.2)**. A autoclave é o método preferido de sanitização, a não ser que o material a ser esterilizado possa ser danificado por calor ou umidade.

Quanto maior a pressão na autoclave, maior a temperatura. Por exemplo, quando o vapor de fluxo livre a uma temperatura de 100°C é colocado sob uma pressão de 1 atmosfera acima da pressão ao nível do mar – isto é, cerca de 15 libras de pressão por polegada quadrada (psi) – a temperatura sobe para 121°C. Aumentando a pressão para 20 psi, a temperatura sobe para 126°C. As relações entre temperatura e pressão são mostradas na **Tabela 7.3**.

A esterilização com autoclave é mais eficaz quando os organismos são contactados diretamente pelo vapor ou estão contidos em um pequeno volume de solução aquosa (constituída primariamente por água). Sob essas condições, o vapor a uma pressão em torno de 15 psi (121°C) matará todos os organismos (com exceção dos príons, veja a página 392) e seus endosporos em cerca de 15 minutos.

A autoclave é um método usado para esterilizar meios de cultura, instrumentos, vestimentas, equipamento intravenoso, aplicadores, soluções, seringas, equipamento de transfusão e diversos outros itens que podem suportar altas temperaturas e pressões. As grandes autoclaves industriais são denominadas *retortas* (veja a Figura 28.2, página 795), mas o mesmo princípio se aplica para a panela de pressão doméstica comum, na produção de conservas caseiras.

O calor requer tempo extra para alcançar o centro de materiais sólidos como as carnes enlatadas, pois esses materiais não desenvolvem correntes de convecção de distribuição de calor eficientes como ocorre nos líquidos. O aquecimento de recipientes grandes também requer tempo extra. A **Tabela 7.4** mostra as exigências de tempo para esterilizar líquidos em recipientes de diferentes tamanhos.

Ao contrário da esterilização de soluções aquosas, a esterilização da superfície de um sólido requer que o vapor realmente entre em contato com ela. Para a esterilização de vidros secos, bandagens e similares, deve-se ter o cuidado de assegurar que o vapor entre em contato com todas as superfícies. Por exemplo, folhas de papel alumínio não são afetadas pelo vapor, e não devem ser usadas para embalar materiais que serão esterilizados; em vez disso, deve-se usar papel comum. Cuidado também é necessário para evitar o aprisionamento de ar no fundo de um recipiente seco, pois o ar aprisionado não será substituído pelo vapor, que é mais leve que o ar. O ar aprisionado é o equivalente a um peque-

**Figura 7.2 Uma autoclave.** O vapor que entra força o ar para fora da parte inferior (setas azuis). A válvula do ejetor automático permanece aberta enquanto uma mistura de ar e vapor está saindo pela tubulação de esgoto. Quando todo o ar tiver sido ejetado, a temperatura mais elevada do vapor puro fecha a válvula, e a pressão na câmara aumenta.

**P** Como um frasco vazio e destampado deveria ser posicionado para esterilização no interior de uma autoclave?

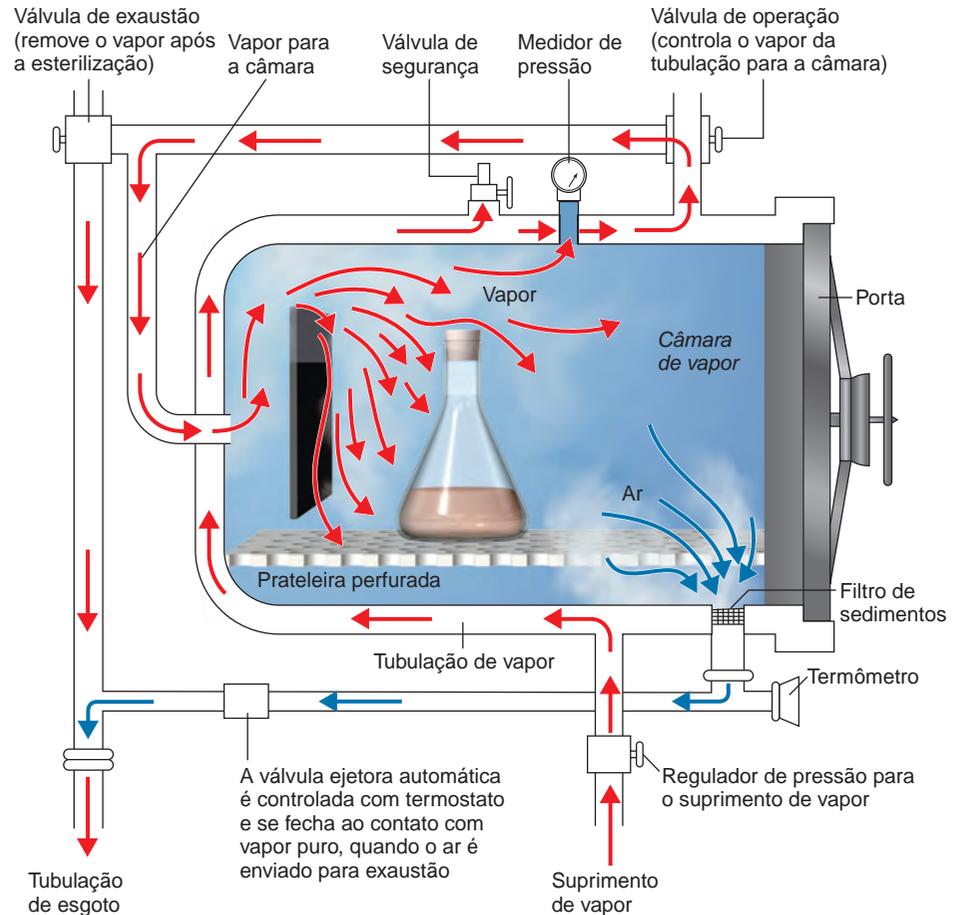


Tabela 7.3

A relação entre a pressão e a temperatura do vapor ao nível do mar\*

Pressão (psi acima da pressão atmosférica)	Temperatura (°C)
0	100
5	110
10	116
15	121
20	126
30	135

\* Em altitudes elevadas, a pressão atmosférica é menor, o que deve ser levado em consideração quando se estiver operando uma autoclave. Por exemplo, para se atingir a temperatura de esterilização (121°C) em Denver, no estado norte-americano do Colorado, cuja altitude é 1.600 metros, a pressão mostrada no aferidor da autoclave precisaria ser maior que os 15 psi mostrados na tabela.

Tabela 7.4

O efeito do tamanho do recipiente sobre os tempos de esterilização em autoclave para soluções líquidas\*

Tamanho do recipiente	Volume do líquido	Tempo de esterilização (min)
Tubo de ensaio: 18 × 150 mm	10 mL	15
Frasco de Erlenmeyer: 125 mL	95 mL	15
Frasco de Erlenmeyer: 2.000 mL	1.500 mL	30
Balão de fermentação: 9.000 mL	6.750 mL	70

\* Os tempos de esterilização na autoclave incluem o tempo para o conteúdo dos recipientes atingir as temperaturas de esterilização. Para recipientes menores, este é de apenas cinco minutos ou menos. Porém, para um frasco de 9.000 mL, pode ser de até 70 minutos. Um recipiente normalmente não é preenchido além de 75% de sua capacidade.



**Figura 7.3 Exemplos de indicadores de esterilização.** As tiras indicam se o item foi esterilizado corretamente; a palavra *NÃO* (NOT) aparece se o aquecimento foi inadequado. Na ilustração, o indicador que está envolto na lâmina de papel alumínio não foi esterilizado porque o vapor não conseguiu penetrar na lâmina.

**P** O que deveria ter sido usado em vez de papel alumínio para envolver os itens?

no forno de ar quente que, como veremos em breve, requer uma temperatura maior e mais tempo para esterilizar os materiais. Os recipientes que podem aprisionar ar devem ser colocados em uma posição invertida, para que o vapor force o ar para fora. Os produtos que não permitem a penetração de umidade, como o óleo mineral ou a vaselina, não são esterilizados pelos mesmos métodos usados para soluções aquosas.

Vários métodos comercialmente disponíveis indicarão se a esterilização foi obtida por tratamento com calor. Alguns deles são reações químicas em que um indicador altera sua cor quando os tempos e temperaturas corretos tiverem sido atingidos (Figura 7.3). Em alguns métodos, a palavra *estéril* ou *autoclavado* aparece nas embalagens ou em adesivos. Em outro método, uma pastilha contida dentro de um frasco de vidro derrete. Um teste amplamente usado consiste na preparação de determinadas espécies de endosporos bacterianos impregnados em tiras de papel. Após a autoclave, as tiras são então inoculadas assepticamente em meios de cultura. O crescimento nos meios de cultura indica a sobrevivência dos endosporos e, assim, o processamento inadequado. Outros métodos usam suspensões de endosporos que podem ser liberadas, após o aquecimento, em um meio de cultura circundante dentro do mesmo frasco.

O vapor sob pressão falha em esterilizar quando o ar não é completamente removido. Isso pode acontecer com o fechamento prematuro da válvula ejetora automática da autoclave (veja a Figura 7.2). Os princípios da esterilização com o uso do calor têm relação direta com a produção de conservas caseiras. Qualquer pessoa familiarizada com a produção de conservas caseiras sabe

que o vapor deve fluir vigorosamente para fora da válvula da tampa por vários minutos, para remover todo o ar antes que a panela de pressão esteja selada. Se o ar não é completamente removido, o recipiente não atinge a temperatura esperada para uma dada pressão. Devido à possibilidade de botulismo, um tipo de intoxicação alimentar resultante de métodos inadequados de envasamento (veja o Capítulo 22, página 616), as pessoas envolvidas na produção de conservas caseiras deveriam obter orientações confiáveis e segui-las rigorosamente.

## Pasteurização

Lembre-se do Capítulo 1 que, nos primórdios da microbiologia, Louis Pasteur descobriu um método prático de prevenir a deterioração da cerveja e do vinho. Pasteur usou um aquecimento leve, que era suficiente para matar os organismos que causavam o problema específico de deterioração, sem alterar consideravelmente o sabor do produto. O mesmo princípio foi aplicado posteriormente ao leite, para produzir o que atualmente denominamos leite pasteurizado. O objetivo ao **pasteurizar** o leite é eliminar micro-organismos patogênicos. O processo também reduz o número de micro-organismos, prolongando a qualidade do leite quando mantido sob refrigeração. Muitas bactérias relativamente resistentes ao calor (**termodúricas**) sobrevivem à pasteurização, mas têm pouca probabilidade de causar doença ou deteriorar o leite refrigerado.

Outros produtos além do leite, como o sorvete, o iogurte e a cerveja, possuem seus próprios tempos e temperaturas de pasteurização, que com frequência diferem consideravelmente. Existem diversas razões para essas variações. O aquecimento, por exemplo, é menos eficiente em alimentos mais viscosos, e as gorduras podem ter um efeito protetor para os micro-organismos nos alimentos. A indústria de laticínios utiliza rotineiramente um teste para determinar se os produtos foram pasteurizados: o teste da *fosfatase* (a fosfatase é uma enzima naturalmente encontrada no leite). Se o produto sofreu pasteurização, a fosfatase foi inativada.

Atualmente, a maioria dos processos de pasteurização do leite utiliza temperaturas mínimas de 72°C, mas por apenas 15 segundos. Esse tratamento, conhecido como **pasteurização de alta temperatura e curto tempo** (HTST, de *high-temperature, short-time*), é aplicado enquanto o leite flui continuamente por uma serpentina. Além de matar os patógenos, a pasteurização HTST diminui as contagens bacterianas totais; assim, o leite se conserva bem sob refrigeração.

O leite também pode ser esterilizado – algo muito diferente da pasteurização – por **tratamentos de temperatura ultraelevada** (UHT, de *ultra-high temperature*), podendo ser armazenado sem refrigeração por vários meses (veja também *esterilização comercial*, na página 794). O leite UHT é muito comercializado na Europa, sendo especialmente útil em regiões menos desenvolvidas do mundo, onde condições apropriadas de refrigeração nem sempre estão disponíveis. Nos Estados Unidos, o tratamento de UHT algumas vezes é usado em recipientes pequenos de creme para o café, encontrados em restaurantes. Para evitar dar ao leite um sabor de cozido, é usado um sistema UHT em que o leite nunca toca uma superfície mais quente que ele próprio enquanto é aquecido por vapor. Geralmente, o leite líquido é aspergido por um bocal em uma câmara com vapor sob pressão em altas temperaturas. Como um pequeno

volume de fluido aspergido em uma atmosfera de vapor em alta temperatura expõe uma superfície relativamente grande, as gotículas do fluido são aquecidas pelo vapor, e as temperaturas de esterilização são alcançadas quase que instantaneamente. Após atingir uma temperatura de 140°C por 4 segundos, o fluido é rapidamente resfriado em uma câmara de vácuo. O leite (ou suco) é então empacotado em uma embalagem hermética e pré-esterilizada.

Os tratamentos de calor que acabamos de discutir ilustram o conceito de **tratamentos equivalentes**: à medida que a temperatura é aumentada, muito menos tempo é necessário para matar o mesmo número de micro-organismos. Por exemplo, a destruição de endosporos altamente resistentes pode levar 70 minutos a 115°C, enquanto apenas 7 minutos seriam necessários a 125°C. Ambos os tratamentos produzem o mesmo resultado.

### Esterilização por calor seco

O calor seco mata por efeitos de oxidação. Uma analogia simples é a lenta carbonização do papel em um forno aquecido, mesmo quando a temperatura permanece abaixo do ponto de ignição do papel. Um dos mais simples métodos de esterilização com calor seco é a **chama direta**. Você utilizará esse procedimento muitas vezes no laboratório de microbiologia, quando esterilizar alças de inoculação. Para esterilizar efetivamente a alça de inoculação, você aquece o fio até obter um brilho vermelho. Um princípio similar é usado na **incineração**, um modo efetivo de esterilizar e eliminar papel, copos, sacos e vestimentas contaminadas.

Outra forma de esterilização por calor seco é a **esterilização em ar quente**. Os itens esterilizados por esse procedimento são colocados em um forno. Geralmente, uma temperatura de cerca de 170°C mantida por aproximadamente duas horas assegura a esterilização. Um tempo maior e uma temperatura mais alta (relativos ao calor úmido) são necessários, pois o calor na água é conduzido mais rapidamente para um corpo frio do que o calor no ar. Por exemplo, imagine os diferentes efeitos da imersão de sua mão em água fervente a 100°C e de mantê-la em um forno de ar quente na mesma temperatura pela mesma quantidade de tempo.

### Filtração

**P&R** Lembre-se do Capítulo 6 que a *filtração* é a passagem de um líquido ou gás por meio de um material semelhante a uma tela, com poros pequenos o suficiente para reter os micro-organismos (frequentemente o mesmo aparato usado para contagem; veja a Figura 6.18, página 177). Um vácuo é criado no frasco coletor, e a pressão do ar força a passagem do líquido pelo filtro. A filtração é usada para esterilizar os materiais sensíveis ao calor, como alguns meios de cultura, enzimas, vacinas e soluções antibióticas.

Algumas salas de cirurgia e salas ocupadas por pacientes queimados recebem ar filtrado para reduzir o número de micro-organismos transmitidos pelo ar. Os **filtros de partículas de ar de alta eficiência** (HEPA, de *high-efficiency particulate air*) removem quase todos os micro-organismos maiores que cerca de 0,3 µm de diâmetro.

Nos primórdios da microbiologia, filtros ociosos em forma de velas feitos de porcelana não esmaltada eram usados para filtrar os líquidos. As passagens longas e indiretas através das paredes



**Figura 7.4** Esterilização com filtro, com uma unidade plástica descartável, pré-esterilizada. A amostra é colocada na câmara superior e forçada através do filtro de membrana pelo vácuo, para a câmara inferior. Os poros do filtro de membrana são menores que as bactérias, e assim, elas são retidas no filtro. A amostra esterilizada pode então ser decantada na câmara inferior. Um equipamento similar com discos de filtro removíveis é usado para contar as bactérias em amostras (veja a Figura 6.18).

**P** Como um aparato plástico de filtração pode ser pré-esterilizado? (Considere que o plástico não pode ser esterilizado por calor.)

do filtro adsorviam as bactérias. Os patógenos invisíveis que passavam através dos filtros (e que causavam doenças como a raiva) eram denominados *vírus filtráveis*. Veja a discussão sobre a filtração nos processos modernos de tratamento de água, na página 782.

Recentemente, os **filtros de membrana**, compostos de substâncias como ésteres de celulose ou polímeros plásticos, tornaram-se populares para uso industrial e laboratorial (Figura 7.4). Esses filtros possuem apenas 0,1 mm de espessura. Os poros de um filtro de membrana incluem, por exemplo, tamanhos de 0,22 µm e 0,45 µm, que são destinados a bactérias. Entretanto, algumas bactérias muito flexíveis, como as espiroquetas ou os micoplasmas sem parede celular, algumas vezes passam através desses filtros. Existem filtros com poros tão pequenos quanto 0,01 µm, um tamanho que retém os vírus e mesmo algumas moléculas grandes de proteína.

### Baixas temperaturas

O efeito das baixas temperaturas sobre os micro-organismos depende do micróbio específico e da intensidade da aplicação. Por exemplo, nas temperaturas dos refrigeradores comuns (0 a 7°C), a taxa metabólica da maioria dos micro-organismos é tão reduzida que eles não podem se reproduzir ou sintetizar toxinas. Em outras

palavras, a refrigeração comum tem efeito bacteriostático. Contudo, os psicótrofos ainda crescem lentamente em temperaturas de refrigerador, alterando o aspecto e o sabor dos alimentos após algum tempo. Por exemplo, um único micro-organismo reproduzindo-se somente três vezes por dia atingiria uma população de mais de 2 milhões em uma semana. As bactérias patogênicas geralmente não crescem em temperaturas de refrigerador, mas pelo menos uma importante exceção é conhecida. Veja a discussão sobre listeriose no Capítulo 22 (página 614).

Surpreendentemente, algumas bactérias podem crescer em temperaturas vários graus abaixo do congelamento. A maioria dos alimentos permanece descongelada até  $-2^{\circ}\text{C}$  ou menos. As temperaturas abaixo do congelamento obtidas rapidamente tendem a tornar os micro-organismos dormentes, mas não necessariamente os mata. O congelamento lento é mais nocivo às bactérias; os cristais de gelo que se formam e crescem rompem a estrutura celular e molecular bacteriana. O descongelamento, por ser um processo lento, é na verdade a parte mais prejudicial do ciclo congelamento-descongelamento. Uma vez congelada, um terço da população de algumas bactérias na forma vegetativa pode sobreviver por um ano, enquanto outras espécies podem ter poucos sobreviventes após esse período. Muitos parasitas eucariotos, como o verme que causa a triquinose humana, são mortos após vários dias de temperaturas gélidas. Algumas temperaturas importantes associadas aos micro-organismos e à deterioração do alimento são mostradas na Figura 6.2 (página 158).

## Alta pressão

Quando se aplica alta pressão em suspensões líquidas, ela se transfere instantânea e uniformemente para a amostra. Se a pressão for alta o suficiente, as estruturas moleculares das proteínas e dos carboidratos serão alteradas, resultando na rápida inativação das células bacterianas vegetativas. Os endosporos são relativamente resistentes à alta pressão. Eles podem, no entanto, ser mortos por outras técnicas, como combinar alta pressão com temperaturas elevadas, ou alternar ciclos de pressão que causam a germinação de esporos, seguidos por mortes causadas por pressão das células vegetativas resultantes. Sucos de fruta conservados por tratamentos à base de alta pressão têm sido comercializados no Japão e nos Estados Unidos. Uma vantagem desses tratamentos é que eles mantêm o sabor, a coloração e os valores nutricionais dos produtos.

## Dessecação

Na ausência de água, uma condição conhecida como **dessecação**, os micro-organismos não podem crescer ou se reproduzir, mas podem permanecer viáveis por anos. Então, quando a água é oferecida a eles, podem retomar seu crescimento e divisão. Esse é o princípio da liofilização, ou congelamento-dessecação, um processo utilizado em laboratórios para preservação de micro-organismos, descrito no Capítulo 6 (página 170). Alguns alimentos também passam pelo processo de congelamento-dessecação (p. ex., café e alguns aditivos químicos de fruta para cereais secos).

A resistência das células vegetativas ao ressecamento varia com a espécie e o ambiente do organismo. Por exemplo, a bactéria da gonorreia pode suportar o ressecamento somente por cerca de uma hora, mas a bactéria da tuberculose pode permanecer viável por

meses. Os vírus geralmente são resistentes ao ressecamento, mas não são tão resistentes quanto os endosporos bacterianos, alguns dos quais sobreviveram por séculos. Essa capacidade de certos micro-organismos e endosporos secos permanecerem viáveis é importante em um ambiente hospitalar. A poeira, as roupas, os lençóis e os curativos podem conter micro-organismos infecciosos em muco, urina, pus e fezes secos.

## Pressão osmótica

O uso de altas concentrações de sais e açúcares para conservar o alimento se baseia nos efeitos da *pressão osmótica*. Altas concentrações dessas substâncias criam um ambiente hipertônico que ocasiona a saída da água da célula microbiana (veja a Figura 6.4, página 160). Esse processo lembra a conservação por dessecação, pois ambos os métodos retiram da célula a umidade que ela necessita para o crescimento. O princípio da pressão osmótica é usado na conservação dos alimentos. Por exemplo, soluções concentradas de sal são usadas para conservar carnes, e soluções espessas de açúcar são usadas para conservar frutas.

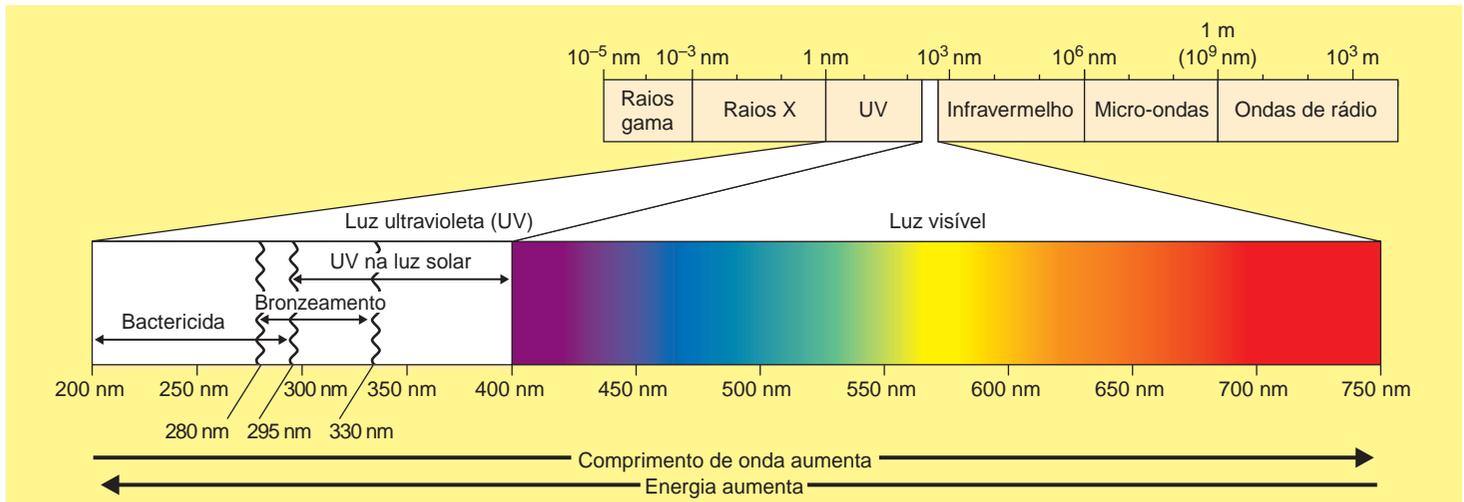
Como regra geral, os fungos e os bolores são muito mais capazes que as bactérias de crescer em materiais com baixa umidade ou altas pressões osmóticas. Essa propriedade dos fungos, algumas vezes combinada com sua capacidade de crescer em condições ácidas, é a razão pela qual as frutas e os grãos são deteriorados por fungos em vez de bactérias. Também é parcialmente por isso que o bolor é capaz de crescer sobre uma parede úmida ou uma cortina de chuva.

## Radiação

A radiação apresenta vários efeitos sobre as células, dependendo de seu comprimento de onda, intensidade e duração. Existem dois tipos de radiação que matam micro-organismos (radiação esterilizante): ionizante e não ionizante.

A **radiação ionizante** – raios gama, raios X ou feixes de elétrons de alta energia – possui um comprimento de onda mais curto que o da radiação não ionizante, menos de 1 nm. Assim, transporta muito mais energia (Figura 7.5). Os *raios gama* são emitidos por certos elementos radioativos, como o cobalto, e os feixes de elétrons são produzidos acelerando elétrons até energias elevadas em máquinas especiais. Os *raios X*, que são produzidos por máquinas do mesmo modo que a produção de feixes de elétrons, são de natureza similar aos raios gama. Os raios gama penetram profundamente, mas podem requerer horas para esterilizar grandes massas; os *feixes de elétrons de alta energia* possuem uma potência de penetração muito inferior, mas normalmente requerem apenas alguns segundos de exposição. O principal efeito da radiação ionizante é a ionização da água, que forma radicais hidroxila altamente reativos (veja a discussão das formas tóxicas de oxigênio no Capítulo 6, páginas 161 e 162). Esses radicais reagem com os componentes orgânicos celulares, especialmente o DNA.

A chamada teoria-alvo da lesão por radiação presume que as partículas ionizantes, ou pacotes de energia, passam através ou junto a porções vitais da célula; isso constitui os “golpes”. Um ou alguns golpes podem causar apenas mutações não letais, algumas delas relativamente úteis. Mais golpes, porém, provavelmente causarão mutações suficientes para matar o micro-organismo.



**Figura 7.5 O espectro de energia radiante.** A luz visível e outras formas de energia radiante se irradiam pelo espaço como ondas de vários comprimentos. A radiação ionizante, como os raios gama e X, possui um comprimento de onda mais curto que 1 nm. A radiação não ionizante, como a luz ultravioleta (UV), possui um comprimento de onda entre 1 nm e cerca de 380 nm, onde o espectro visível começa.

**P** Como o aumento da radiação UV (devido à diminuição da camada de ozônio) pode afetar os ecossistemas da Terra?

A indústria de alimentos recentemente renovou seu interesse no uso da radiação para a conservação de alimentos (discutida mais amplamente no Capítulo 28). A radiação ionizante de baixa penetração, usada durante anos em muitos países, foi aprovada nos Estados Unidos para processamento de temperos e alguns tipos de carne e de vegetais. A radiação ionizante, especialmente os feixes de elétrons de alta energia, é usada na esterilização de produtos farmacêuticos e materiais descartáveis dentários e médicos, como seringas plásticas, luvas cirúrgicas, materiais de sutura e cateteres. Como forma de proteção contra o bioterrorismo, os correios frequentemente usam a radiação para esterilizar certos tipos de correspondências.

A **radiação não ionizante** possui um comprimento de onda maior que o da radiação ionizante, normalmente acima de 1 nm. O melhor exemplo de radiação não ionizante é a luz ultravioleta (UV). A luz UV causa danos ao DNA das células expostas, produzindo ligações entre as bases pirimídicas adjacentes, normalmente timinas nas cadeias de DNA (veja a Figura 8.20, página 230). Esses *dímeros de timina* inibem a replicação correta do DNA durante a reprodução da célula. Os comprimentos de onda UV mais eficazes para matar os micro-organismos são os de cerca de 260 nm; esses comprimentos são absorvidos especificamente pelo DNA celular. A radiação UV também é usada para controlar os micro-organismos no ar. Uma lâmpada UV ou “germicida” é comumente encontrada em salas de hospitais, enfermarias, salas de cirurgia e refeitórios. A luz UV também é usada para desinfetar vacinas e outros produtos médicos. Uma grande desvantagem da luz UV como desinfetante é que a radiação não é muito penetrante; assim, os organismos a serem mortos devem ser expostos diretamente aos raios. Organismos protegidos por sólidos e coberturas como papel, vidro e tecidos não são afetados. Outro

problema potencial é que a luz UV pode lesionar os olhos humanos, e a exposição prolongada pode causar queimaduras e câncer de pele em seres humanos.

A luz solar contém um pouco de radiação UV, mas os comprimentos de onda mais curtos – aqueles mais eficazes contra as bactérias – são filtrados pela camada de ozônio da atmosfera. O efeito antimicrobiano da luz solar está quase inteiramente relacionado à formação de oxigênio livre no citoplasma (veja o Capítulo 6, página 161). Muitos pigmentos produzidos por bactérias fornecem proteção contra a luz solar.

As **micro-ondas** não possuem um efeito muito direto sobre os micro-organismos, e as bactérias podem ser facilmente isoladas do interior de fornos de micro-ondas recém-utilizados. Os alimentos contendo umidade são aquecidos pela ação das micro-ondas, e o calor matará a maioria dos patógenos na forma vegetativa. Os alimentos sólidos se aquecem de modo desigual, devido à distribuição heterogênea da umidade. Por essa razão, a carne de porco cozida em um forno de micro-ondas tem sido responsável por surtos de triquinose.

### TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como prevenir o crescimento microbiano em alimentos enlatados? **7-4**
- ✓ Por que um enlatado contendo somente carne de porco requer um tempo maior de esterilização a uma dada temperatura do que um que contenha sopa com pedaços de carne de porco? **7-5**
- ✓ Qual é a relação entre o efeito mortal da radiação e as formas de radicais hidroxilas do oxigênio? **7-6**

\*\*\*

A **Tabela 7.5** resume os métodos físicos de controle microbiano.

**Tabela 7.5 Métodos físicos usados para o controle do crescimento microbiano**

<b>Método</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Comentário</b>	<b>Uso preferencial</b>
<b>Calor</b>			
1. Calor úmido			
a. Fervura ou passagem de vapor	Desnaturação de proteínas.	Mata células bacterianas e fúngicas patogênicas na forma vegetativa e quase todos os vírus em 10 minutos; menos efetivo para endosporos.	Pratos, bacias, jarros, equipamentos e utensílios variados.
b. Autoclave	Desnaturação de proteínas.	Método muito efetivo de esterilização; em aproximadamente 15 psi de pressão (121°C), todas as células vegetativas e seus endosporos são mortos em cerca de 15 minutos.	Meios microbiológicos, soluções, roupa de cama, utensílios, curativos, equipamento e outros itens que podem suportar temperatura e pressão.
2. Pasteurização	Desnaturação de proteínas.	Tratamento com calor para o leite (72°C por cerca de 15 segundos) que mata todos os patógenos e a maioria dos não patogênicos.	Leite, creme e certas bebidas alcoólicas (cerveja e vinho).
3. Calor seco			
a. Chama direta	Queima dos contaminantes até se tornarem cinzas.	Método muito eficaz de esterilização.	Alças de inoculação.
b. Incineração	Queima até se tornarem cinzas.	Método muito eficaz de esterilização.	Copos de papel, curativos contaminados, carcaças de animais, sacos e panos de limpeza.
c. Esterilização com calor quente	Oxidação.	Método muito eficaz de esterilização, mas requer temperatura de 170°C por cerca de duas horas.	Vidros vazios, instrumentos, agulhas e seringas de vidro.
<b>Filtração</b>	Separação das bactérias do líquido de suspensão.	Remove os micro-organismos por meio da passagem de um líquido ou gás através de um material semelhante a uma tela; a maioria dos filtros em uso consiste em acetato de celulose ou nitrocelulose.	Útil para esterilizar líquidos (enzimas, vacinas) que são destruídos pelo calor.
<b>Frio</b>			
1. Refrigeração	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Possui efeito bacteriostático.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
2. Congelamento profundo (veja o Capítulo 6, página 170)	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Um método eficaz para conservar culturas microbianas, em que as culturas são rapidamente congeladas a -50 e -95°C.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
3. Liofilização (veja o Capítulo 6, página 170)	Diminuição das reações químicas e possíveis alterações nas proteínas.	Método mais eficaz para a conservação prolongada de culturas microbianas; a água é removida por alto vácuo em baixa temperatura.	Conservação dos alimentos, drogas e culturas.
<b>Alta pressão</b>	Alteração da estrutura molecular de proteínas e carboidratos.	Conservação de cores, sabores e valores nutricionais.	Sucos de fruta.
<b>Dessecação</b>	Interrupção do metabolismo.	Envolve a remoção de água dos micro-organismos; principalmente bacteriostático.	Conservação dos alimentos.
<b>Pressão osmótica</b>	Plasmólise.	Resulta na perda de água das células microbianas.	Conservação dos alimentos.
<b>Radiação</b>			
1. Ionizante	Destruição do DNA.	Não disseminado na esterilização de rotina.	Método usado para esterilizar produtos farmacêuticos e suprimentos médicos e dentários.
2. Não ionizante	Danos ao DNA.	Radiação não muito penetrante.	Controle de ambientes fechados com lâmpada UV (germicida).