

Controle do crescimento microbiano: agentes físicos e químicos



**MICROBIOLOGIA
FUNDAMENTAL**

Definição



Ação microbiocida: eliminação de células vegetativas, mas não necessariamente endósporos bacterianos

Ação microbiostática: inibição da multiplicação de microrganismos

Definição



Desinfecção: destruição de **formas vegetativas** de microrganismos, mas não necessariamente de endósporos. Reduz os níveis de microrganismos

Esterilização: destruição de todas as formas de vida presentes em objetos inanimados (**inclui endósporos** bacterianos)

Antissepsia: remoção de **parte dos microrganismos** presentes em tecidos vivos

Sanitização: redução de microrganismos em níveis **seguros para a saúde pública**, reduzindo as chances de transmissão de doença

Fatores de influência na eficiência



- Características dos microrganismos
- Método utilizado
- Condições ambientais

Resistência intrínseca dos microrganismos

Ordem decrescente de resistência:

Príons

Endósporos de bactérias

Micobactérias (álcool-ácido resistentes)

Cistos de protozoários

Bactérias Gram-negativas

Fungos

Vírus não envelopados

Bactérias Gram-positivas

Vírus envelopados

Fatores de influência na eficiência



Microrganismos - exemplos

- Mecanismos de exclusão de moléculas de biocidas
- **Bactérias Gram negativas:** membrana externa hidrofóbica (baixa fluidez) e presença de proteínas (porinas) que permitem a entrada de moléculas menores
- *Mycobacterium* (bacilo álcool-ácido resistente): baixa permeabilidade a moléculas hidrofílicas e porinas em pequeno número e com menor diâmetro
- **Fungos:** parede celular com alta concentração de esteróis, poros de pequeno diâmetro

Microorganismos

Endósporos

Córtex e capa: barreiras à penetração dos biocidas

Agentes esporicidas: destruição da camada externa e/ou córtex: sítio de ação no protoplasto

Elevado grau desidratação do protoplasto

- maior viscosidade
- menor difusão de biocidas e resistência ao calor

Microorganismos

Vírus

Vírus envelopados: envelope viral constitui sítio extra de ação de biocidas

Príons

Proteína infectante: grande resistência a agentes químicos e físicos (isoforma resistente de uma proteína fisiológica)

Microrganismos

Biofilmes bacterianos

Comunidades bacterianas

- Células bacterianas embebidas em matriz de polissacarídeo aniônico) → limitação da penetração de biocidas
- Restrição de nutrientes = menor taxa de crescimento → maior resistência a biocidas
- Sinais de comunicação celular → alterações fenotípicas → alteração de sítios de ação, exclusão de compostos biocidas

Microrganismos

Resistência adquirida a compostos biocidas

- Concentrações residuais de biocidas → pressão seletiva → cepas resistentes
- Mutações, transferência horizontal de genes
- Exemplo: triclosan
- Resistência cruzada: biocidas e antibióticos

Método utilizado

↑ concentração
do produto

↑ período
de contato



maior eficácia

associação de
desinfetantes



sinergismo
inativação
compostos tóxicos

Ambiente

↑ umidade
relativa do ar

↑ temperatura
> 20°C



maior eficácia

qualidade e
características
da água



contaminação
dureza
PH

pH ideal para cada
composto
desinfetante

Ambiente

Matéria orgânica

- Proteção física
- Reação com compostos orgânicos
- Diluição

Tipo de superfície: compatibilidade, contato adequado, reentrâncias

Escolha do método



- Mecanismo e espectro de ação
- Fatores de influência na eficácia
- Toxicidade para humanos e animais
- Impactos ambientais
- Impactos em materiais
- Aplicações

Escolha do método



Físicos

Temperatura

Radiação

Filtração

Dessecação

Pressão osmótica

Método		Mecanismo de ação	Eficiência
Calor úmido	Fervura	Desnaturação de proteínas	Formas vegetativas (10 minutos) Não esterilizante (endósporos) Uso doméstico
	Autoclavação	Desnaturação de proteínas	Esterilizante (121 a 134°C durante 15 a 30 min) Vidraria, meios, instrumentos
	Pasteurização	Desnaturação de proteínas	Não esterilizante Lenta: 63°C/30 min Rápida: 72°C/15 seg Ultra rápida: 130-150°C/3 a 5 seg Leite, sucos, etc
Calor seco	Flambagem	Oxidação de constituintes celulares	Esterilizante Metais, fios de platina
	Forno	Ar quente: oxidação de constituintes celulares	Esterilizante (160°C/2 h ou 180°C/1 h) Vidrarias, metais
Frio	Refrigeração	Interrupção do metabolismo	Microbiostático (bactérias psicotróficas)
	Congelamento	Interrupção do metabolismo Ruptura celular por cristais de gelo (descongelamento)	Microbiostático

Métodos físicos



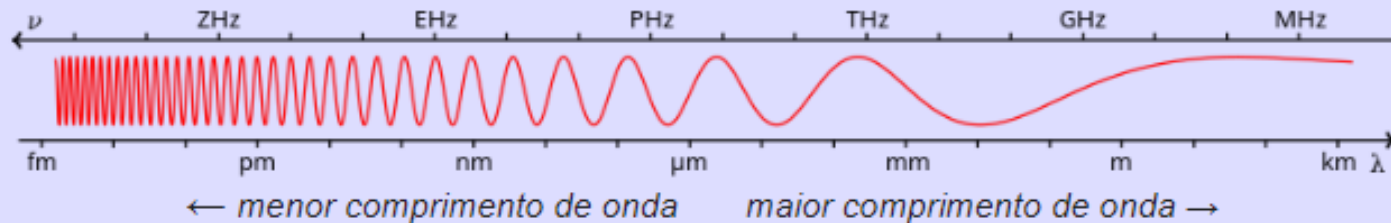
Método		Mecanismo de ação	Eficiência
Filtração	Filtração	Remoção mecânica	Bactérias, fungos e vírus conforme o diâmetro do poro Soluções termossensíveis, medicamentos, meios de cultura

Diâmetro do poro (μM)	Microrganismos filtrados
5	Algas multicelulares, fungos
3	Leveduras, algas unicelulares
1,2	Protozoários e algas unicelulares pequenas
0,45	Bactérias de maior tamanho
0,22	Maioria das bactérias, vírus maiores
0,025	Vírus maiores, pequenas bactérias
0,01	Menores vírus

Método		Mecanismo de ação	Eficiência
Radiação	Não ionizante	Dano ao DNA por formação de dímeros	Luz UV (260 nm) Baixa energia Ação superficial: esterilizante Salas assépticas, cabines de segurança
	Ionizante	Dano ao DNA (dímeros) Formação de radicais superativos por ionização da água	Esterilizante Produtos descartáveis

Espectro eletromagnético

Raios gama · Raios X · Ultravioleta · Espectro visível · Infravermelho · Raios T · Micro-onda · Rádio



Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro_eletromagn%C3%A9tico

Luz UV causa danos ao DNA das células expostas: ligações entre as bases pirimídicas adjacentes (timinas), inibindo a replicação correta do DNA

Métodos físicos



Radiação ionizante

Energia suficiente para ionizar átomos e moléculas: perda de elétrons

Radiação penetrante

Ionização da água: radicais hidroxila altamente reativos

Modificação de moléculas de água, açúcar, proteína, DNA: alteração da função biológica

Métodos físicos



Método	Mecanismo de ação	Eficiência	
Redução da atividade de água	Liofilização	Remoção da água por sublimação	Não esterilizante
	Dessecação	Remoção de água por evaporação	Não esterilizante
	Conjugação de soluto (sal ou açúcar)	Plasmólise em solução hipertônica	Não esterilizante

Células vegetativas bacterianas: espécie

Vírus

Endósporos

Escolha do método



Químicos

Produto ideal ?

- Efeito rápido
- Amplo espectro antimicrobiano
- Ação prolongada e irreversível
- Estabilidade química
- Inodoro ou odor agradável
- Baixa toxicidade (homem, animais, ambiente)
- Fácil aplicação
- Baixo custo

Escolha do método



Principais compostos químicos

<https://i0.wp.com/www.compoundchem.com/wp-content/uploads/2016/03/Guide-to-Disinfectants-Antiseptics.png?ssl=1>

Escolha do método



Ácidos

Orgânicos

ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido ascórbico

Inorgânicos

ácido clorídrico (HCL), o nítrico (HNO₃), o fosfórico(H₃PO₄) e o sulfúrico (H₂SO₄)

Mecanismo de ação

H⁺: destruição das ligações ácidos nucleicos

Alteração do pH do citosol

Precipitação de proteínas

Desvantagens

Inorgânicos: alta toxicidade

Orgânicos: baixa toxicidade

Corrosivos para metais

Vantagens

Baixo custo

Uso

Superfícies

Indústria alimentar (orgânicos)

Conservantes químicos de alimentos

Limpeza prévia



Remoção de sujidades: melhor acesso do composto desinfetante ou esterilizante

Detergentes

Remoção mecânica

Detergentes aniônicos e catiônicos

Avaliação do processo



Avaliação do processo de desinfecção ou esterilização

Análise microbiológica

Legislação: valores máximos permitidos

Exemplo: análise microbiológica da água utilizando microrganismos indicadores