

Aula 4B – BMM450

Esterilização e desinfecção por agentes químicos e físicos



Nilton Lincopan, PhD
lincopan@usp.br
<http://www.onehealthbr.com/>



Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo, Brasil

*All images are believed to be in the public domain. If this is not the case, please email the author at lincopan@usp.br and any images will be promptly removed.

Controle microbiológico

A



B



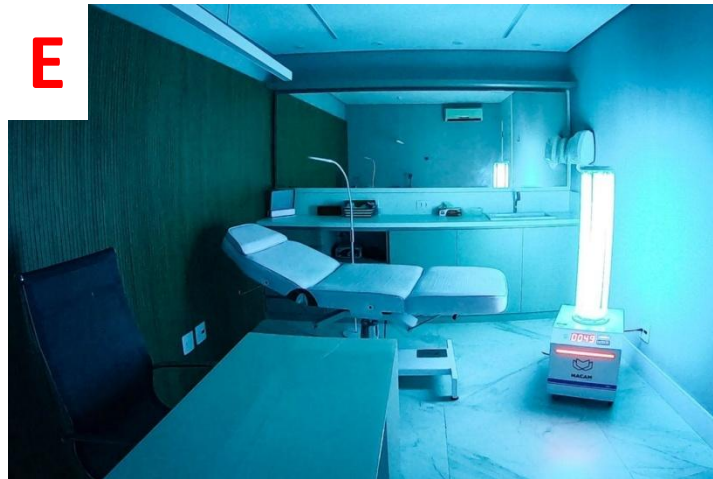
C



D



E



F



G



H



Controle microbiológico



Século III A.C. – Mumificação

Natrão: mistura de carbonato de sódio, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio e sulfato de sódio.

Mirra, Bálsamo de cedro, Cominho, Cera de abelha.

Controle microbiológico



2000 A.C. – conservação de alimentos na antiga Mesopotâmia

Controle microbiológico



Recipiente de cobre

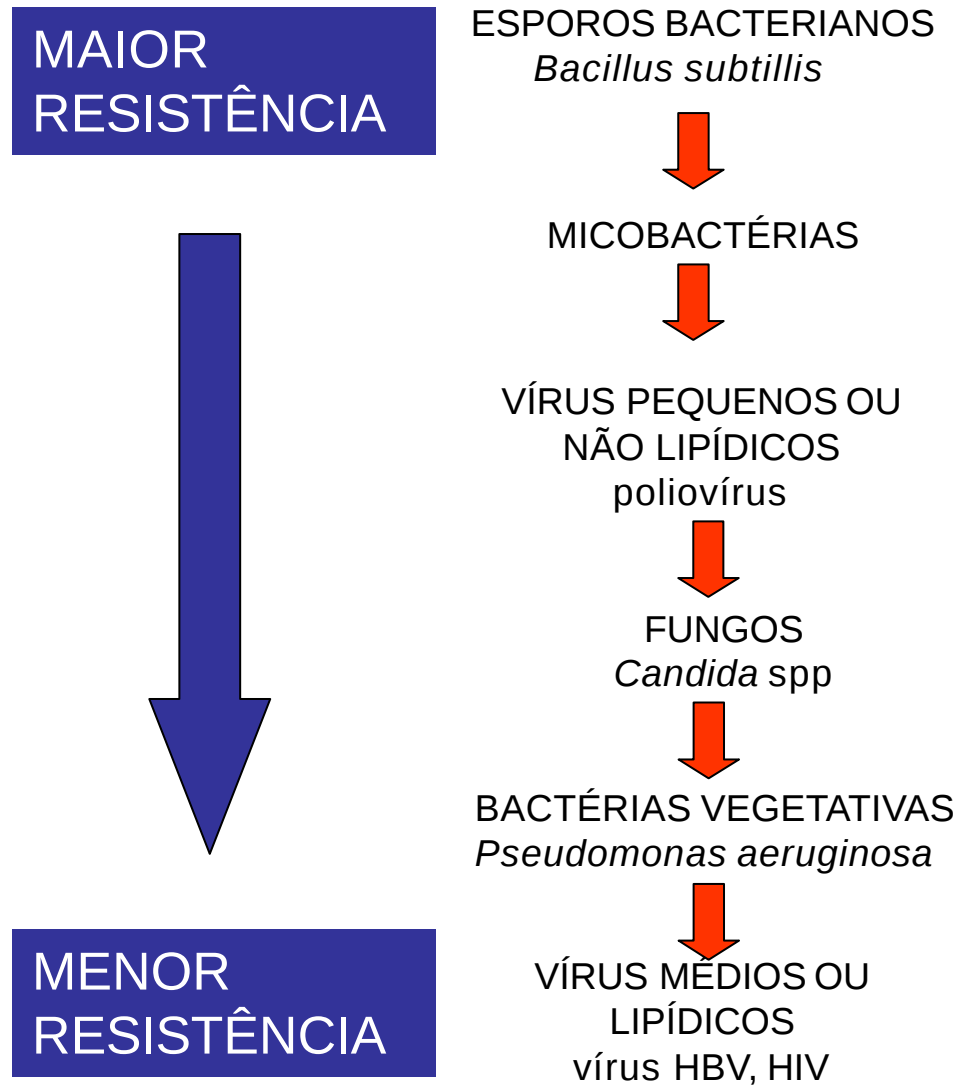
Armazenamento de água em recipientes de cobre e prata

Esterilização, desinfecção e limpeza

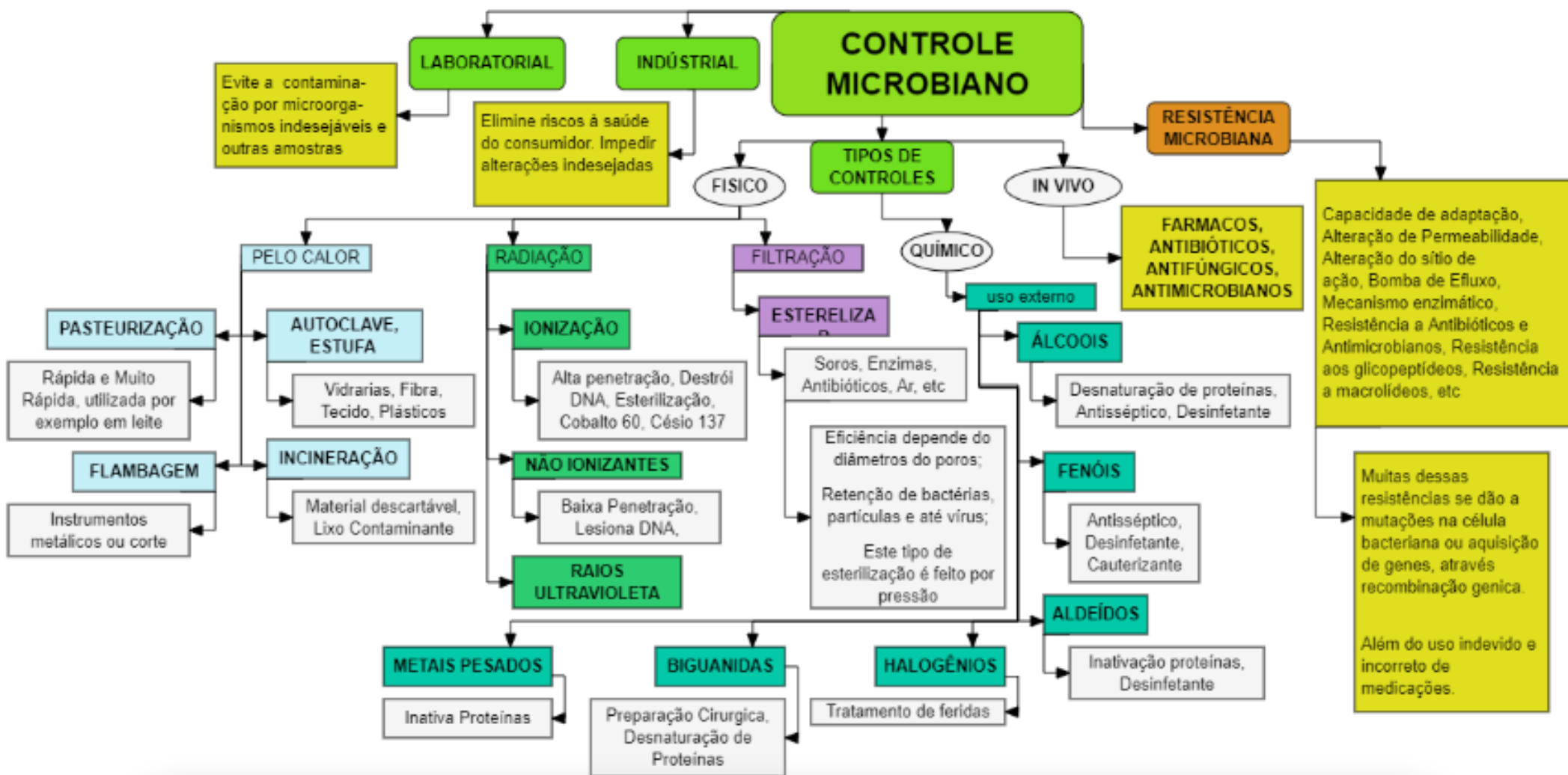
Processos que promovem a eliminação de microorganismos (vírus, bactérias, fungos e parasitas) e sujeira, porém cada um em porcentual diferente.

Esterilização (100%) > desinfecção (até 99%) > limpeza (80%)

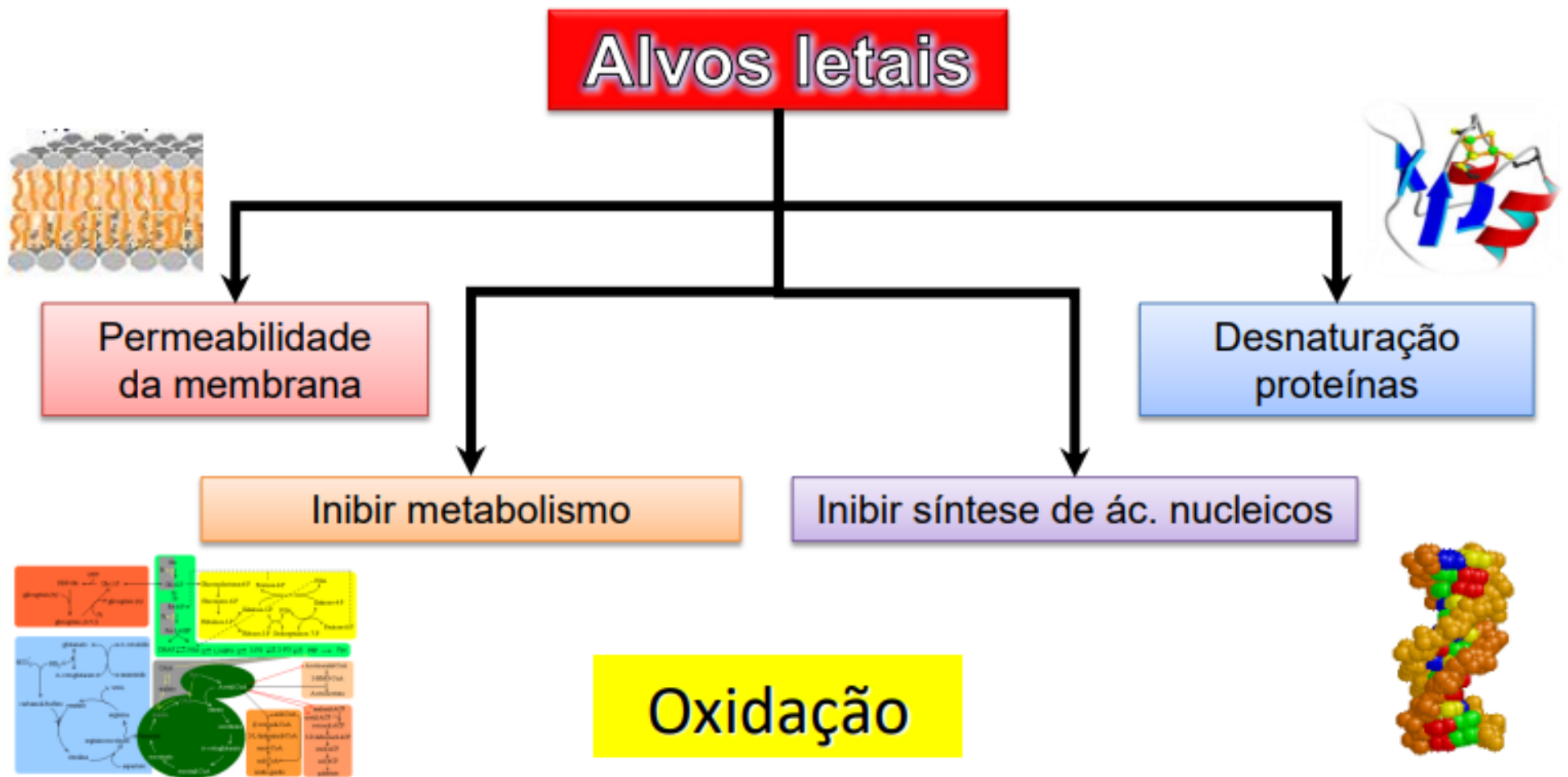
Esterilização, desinfecção e limpeza



Controle microbiológico



Alvos dos métodos de desinfecção e esterilização



Controle microbiológico

Destruição ou remoção das formas de vida, vírus e esporos

TOTAL

Objeto ou meio ambiente



Esterilização



Esterilizante

PARCIAL

Superfícies
inanimadas



Desinfecção



Desinfetante

Tecidos
vivos



Antissepsia



Antisséptico

Controle microbiológico

Eliminação total

MORTE



“Cida”

bactericida

esporicida

fungicida

viricida

amebicida

algicida

Inibição do crescimento
(redução do metabolismo)



“Stático”

bacteriostático

micostático

Controle microbiológico

1. Atividade vs tempo de interação

Morte exponencial

1 milhão de bactérias

1º min

100.000

2º min

10.000

3º min

1.000

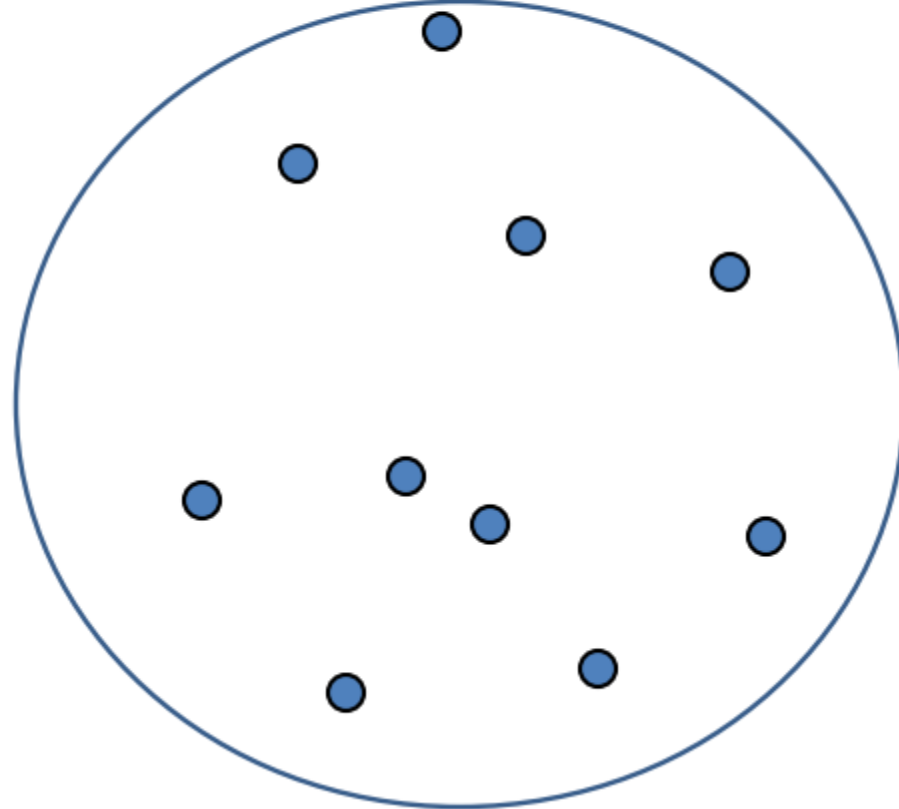
4º min

100

5º min

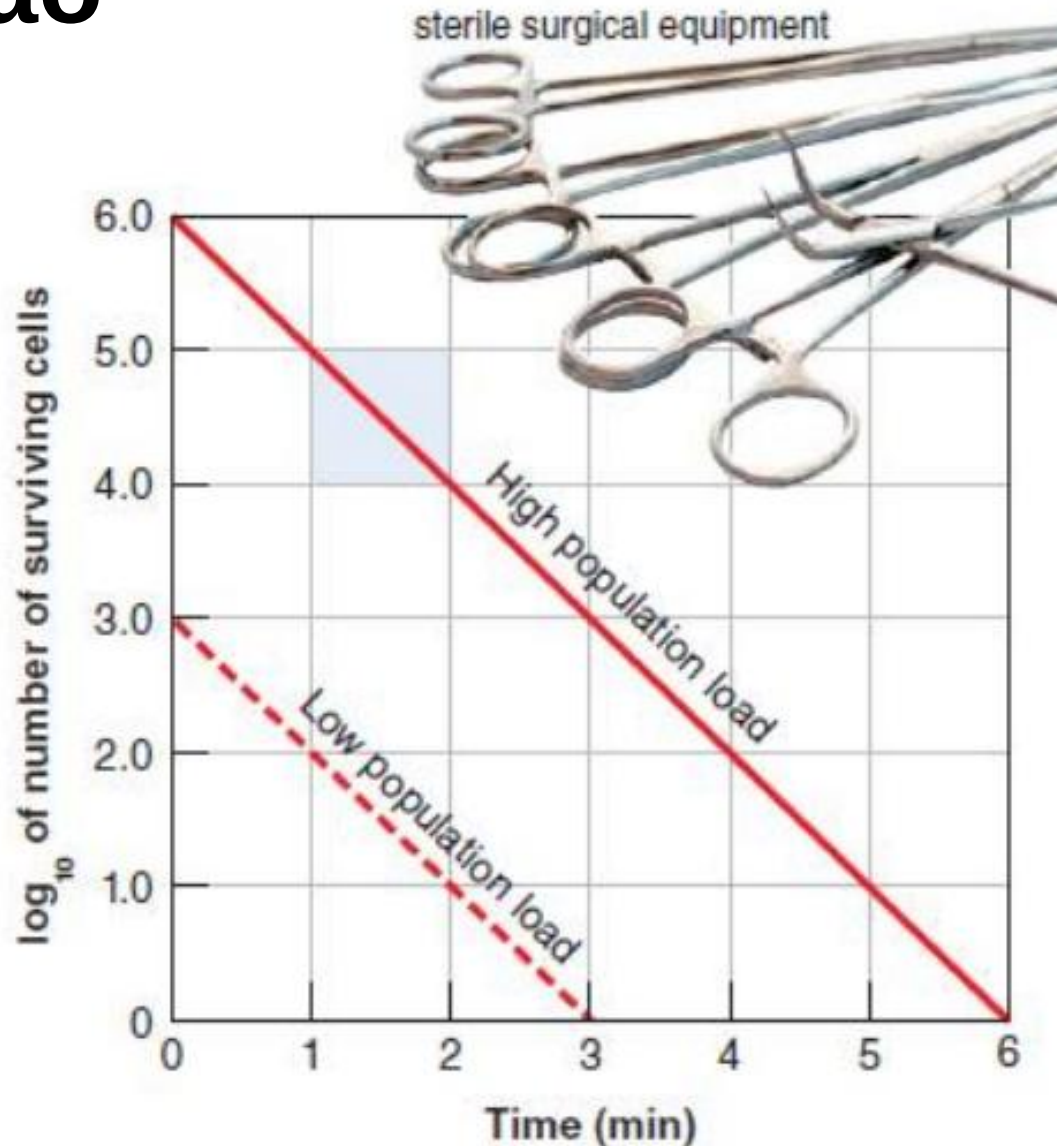
10

AGENTE FÍSICO ou QUÍMICO



Controle microbiológico

2. Carga bacteriana vs tempo de interação



Lavagem das mãos



**“Partículas
cadavéricas”**

**Febre
puerperal**

1846: Ignaz Semmelweis

https://www.youtube.com/watch?v=tYBlRouh2JU&ab_channel=AlexandrePerondaLuz

Febre Puerperal (*Streptococcus agalactiae*)

Prevenção:

Cultura de secreção vaginal e retal, colhidas por SWAB, (35ª e a 37ª semanas de gestação)

Positivo: penicilina G 5 milhões UI endovenosa como dose de ataque, seguida de 2.500.000 UI endovenosa de 4 em 4 horas. Como alternativa pode ser usada a ampicilina na dose de 2,0 gramas endovenoso como dose de ataque seguida de 1,0 grama endovenoso a cada 4 horas. Antibióticos utilizados

Infecção:

- **Clindamicina 900 mg, IV, a cada 8 horas ou 600 mg, IV, a cada 6 horas**
- **Gentamicina 3,5 a 5 mg, IV, a cada 24 horas**
- **Ampicilina 1 g, IV a cada 6 horas**
- **Metronidazol 500 mg 8/8h**

Limpeza

Processo de remoção mecânica das sujidades, realizado com água, sabão ou detergente, de forma manual ou automatizada

Finalidade:

- ✓ Remoção da sujidade
- ✓ Remoção ou redução de microorganismos
- ✓ Remoção ou redução de substâncias pirogênicas

Limpeza

- Manual
- detergente (enzimático)
- escovas
- jatos de água
- água quente



E.P.I. – luvas grossas, avental impermeável, óculos e máscara

Esterilização

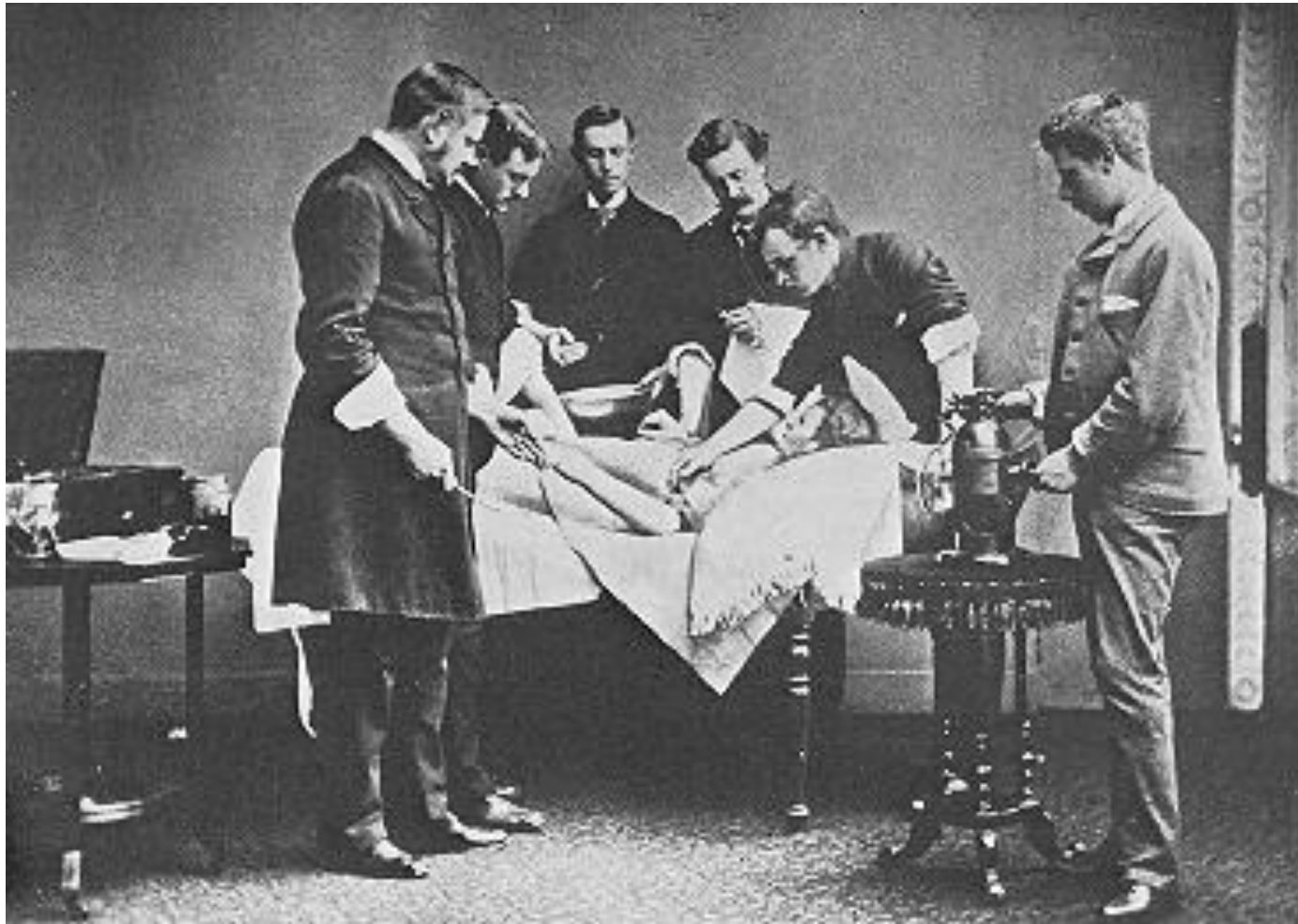
Conjunto de procedimentos físicos, químicos e biológicos que tem por objetivo **destruir ou separar totalmente** os microrganismos sapróbios e patógenos, tanto na sua forma vegetativa como esporulada.

Esterilização



“Joseph Lister [1827-1912]. . . Promoveu a idéia de cirurgia estéril em 1865, introduzindo o uso de gás carbônico (fenol) para esterilizar instrumentos e limpar feridas.

Esterilização



Cirurgia utilizando *spray* de ácido carbólico (ácido fênico, 1869)

<https://books.scielo.org/id/8kf92/pdf/rezende-9788561673635-21.pdf>

Esterilização y Desinfecção

I.– Métodos Físicos

Temperatura

Filtração

Centrifugação

Radiações

Ondas supersônicas

Pressão osmótica

II.– Métodos Químicos

Desinfecção

Anti-sepsia (Assepsia)

III – Métodos Biológicos

Drogas antimicrobianas

Bacteriocinas

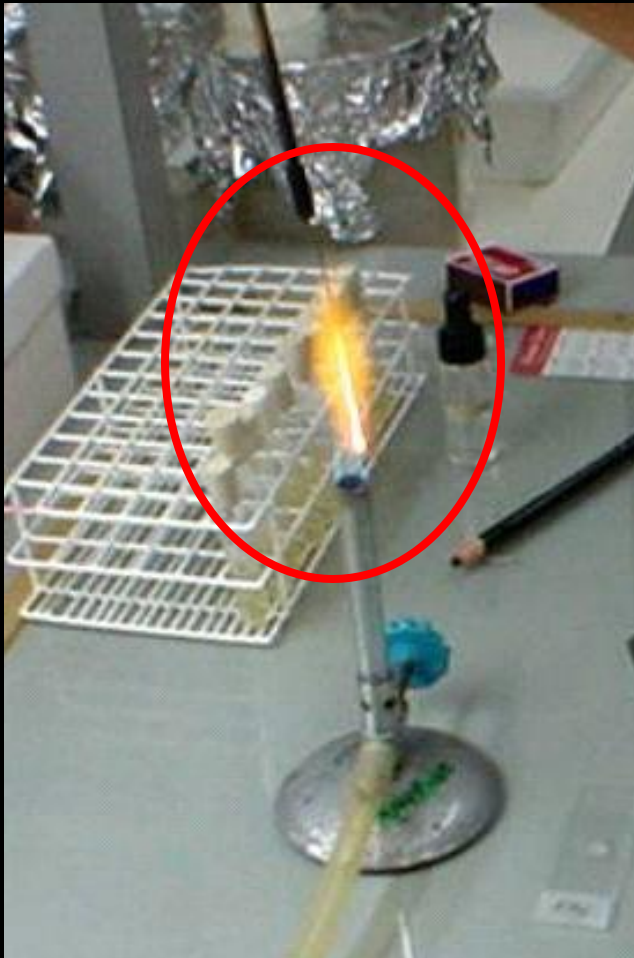
Bacteriófagos

Métodos Físicos de Controle



Métodos Físicos de Controle

Temperatura: Calor seco direto: oxidação de todo material até formar cinzas = **Esterilização**



Bico de Bunsen:
material metálico ou de vidro:
alça de platino
pipeta Pasteur
boca de tubos

Métodos Físicos de Controle

Temperatura: Ar quente = coagulação de proteínas intracelulares



Forno Pasteur

180° C x 1 hr

material cirúrgico

vidro

Esterilização

Elimina formas vegetativas, esporuladas, vírus

Métodos Físicos de Controle

Temperatura: Calor úmido + pressão

= desnaturação de proteínas



Esterilização

Autoclave

115 - 120° C (1 atmósfera) x 20 min

Meios de cultura

Material contaminado

Material de vidro

Métodos Físicos de Controle

Temperatura: Calor úmido + pressão
= desnaturação de proteínas



Pasteurização: Métodos Físicos

Temperatura: Calor úmido sem pressão

Pasteurização:

Choque térmico quente/frio

LT.LT (low temperature, long time):

65°C x 30 min

HT.ST (high-temperature, short time):

72° C x 15 seg/esfriamento 10° C

UHT (ultra high temperature):

130-150° C x 5 seg.



Métodos Físicos de Controle

Filtração: filtros com poros $< 0,45 \mu\text{m } \varnothing$



Separação e eliminação de microrganismos para esterilizar líquidos ou gases que não resistem ao calor

Filtros de Partículas de Ar de Alta Eficiência (HEPA - High Efficiency Particulate Air filters)

- Aplicação: Manuseio de materiais perigosos como tecido animal doente, micro-organismos infecciosos ou manipulação gênica de micro-organismos.
- Mecanismo de ação: retenção.
- Esterilização: NÃO removem 99,97% de partículas de 0,3 μm .

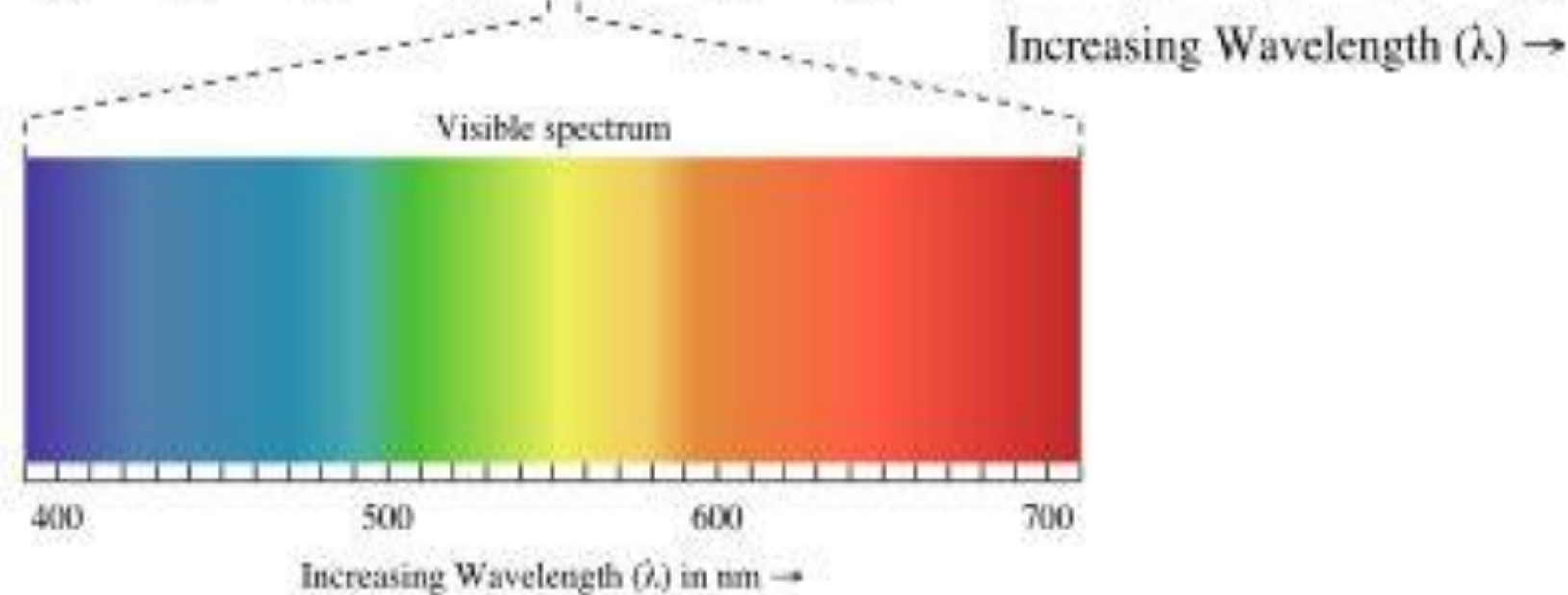
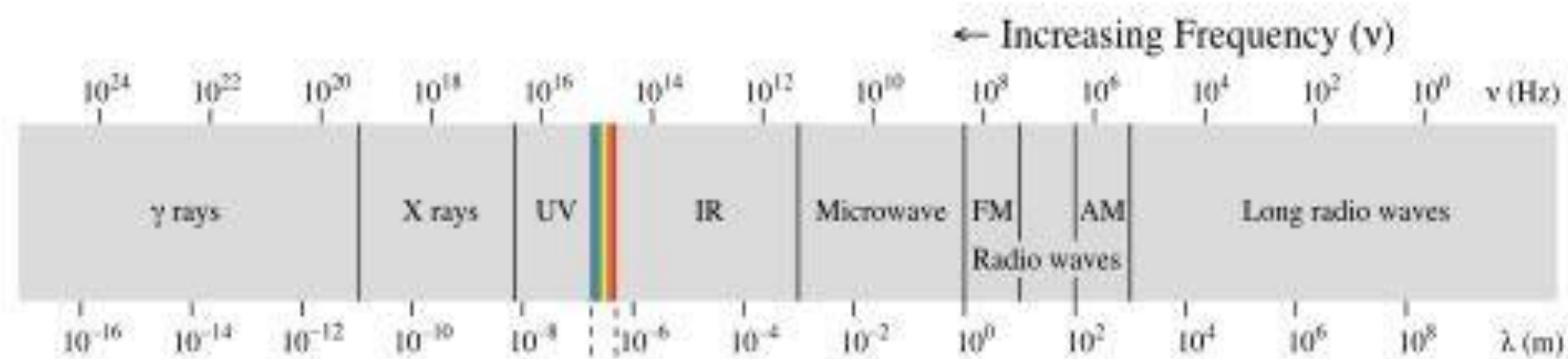


Fluxo
Laminar

FILTRAÇÃO

Retenção dos micro-organismos

Pore Size (μm)	Microbes That Are Trapped
5	Multicellular algae, animals, and fungi
3	Yeasts and larger unicellular algae
1.2	Protozoa and small unicellular algae
0.45	Largest bacteria
0.22	Largest viruses and most bacteria
0.025	Larger viruses and pliable bacteria (mycoplasmas, rickettsias, chlamydias, and some spirochetes)
0.01	Smallest viruses



Métodos Físicos de Controle

Radiação: Luz UV



Luz Ultravioleta 15 minutos

Ação germicida

Lâmpadas especiais (260 nm)

Esterilização de:
ambientes, hospitais,
laboratórios, quirófanos,
água de piscina, água de
bebida, vegetais,
hemocentros

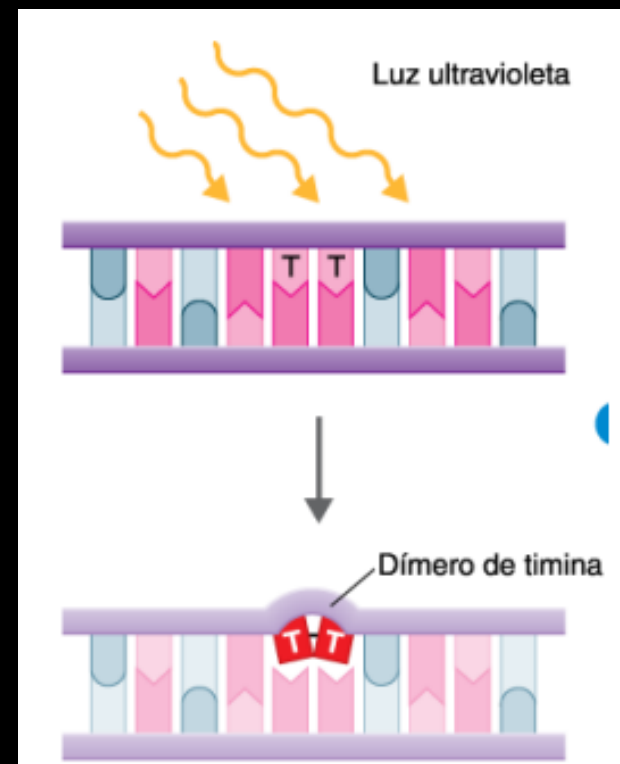
Métodos Físicos de Controle

Radiação: Luz UV

UVA (400 – 320 nm, também chamada de "luz negra" ou onda longa) (380-420),

UVB (320–280 nm, também chamada de onda média) e

UVC (280 - 100 nm, também chamada de UV curta ou "germicida").

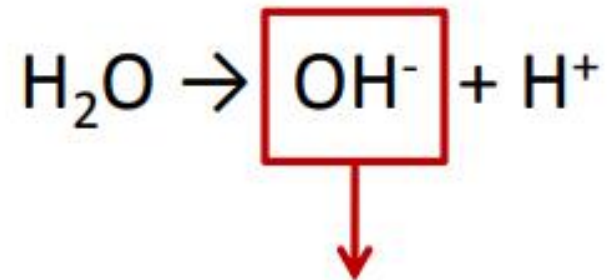


Produz ligações entre duas bases timina em uma mesma hélice do DNA do organismo. Isso acaba afetando a síntese de proteínas pelo organismo por impedir a replicação do DNA.

Radiação Ionizante

- Mecanismo de ação: morte ou mutação.

Ionização das moléculas, ou seja, conduzem elétrons constantemente até romperem moléculas em átomos



Radicais hidroxila interferem na transcrição do DNA

- Esterilização: SIM.

Radiação Ionizante

Produto	Sem ionização	Com ionização
Alho	4 meses	10 meses
Arroz	1 ano	3 anos
Banana	15 dias	45 dias
Batata	1 mês	6 meses
Cebola	2 meses	6 meses
Farinha	6 meses	2 anos
Filé de Pescada Refrigerado	5 dias	30 dias
Frango Refrigerado	7 dias	30 dias
Legumes e Verduras	5 dias	18 dias
Manga	7 dias	21 dias
Milho	1 ano	3 anos
Morango	3 dias	21 dias
Papaia	7 dias	21 dias
Trigo	1 ano	3 anos

Desinfecção/Anti-sepsia

Desinfecção:

Destruição de microrganismos capazes de transmitir infecção. São usadas substâncias químicas aplicadas em objetos ou materiais. Reduzem ou inibem o crescimento, mas não esterilizam necessariamente

Anti-sepsia:

Desinfecção química da pele, mucosas e tecidos vivos com a finalidade de prevenir ou combater a infecção (sepsia)

Anti-séptico vs desinfetante

1. Dano ao DNA: ligação com bases interfere na replicação do DNA (formaldeído ou formol)
- 2. Desnaturação de proteínas: álcool, fenóis.**
- 3. Disrupção da membrana celular:
álcool, detergentes, fenóis.**
4. Antagonismo químico: o composto interfere na ligação específica de uma enzima e seu substrato (metais pesados, hipoclorito de Na, Iodo)

Anti-séptico vs desinfetante

1. Álcoois.
2. Clorhexidina
3. Íons de metais pesados (nitrato de prata)
4. Agentes oxidantes: cloro, iodo, peróxido de H₂, permanganato de potássio.
5. Formaldeído, glutaraldeído
6. Detergentes (cloreto de benzalcônio).
7. Corantes (violeta de genciana, azul de metileno)

Álcoois

Ajuda na entrada do álcool na célula
↓ Volatilização

Etílico (70%)

- Aplicação: superfícies humanas e inanimadas em geral.
- Mecanismo de ação: desnaturação e remoção mecânica.
- Espectro de ação: Gram (+) e (-), BAAR, fungos e vírus envelopados.
- Tempo de exposição: 10 a 15 min.
- Desvantagem: evaporação rápida sem deixar resíduos.
- Vantagem: baixo custo, baixa toxicidade, fácil aquisição e aplicação.



?



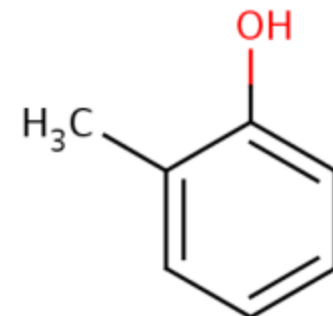
Fenol e Compostos fenólicos

- Mecanismo de ação: lesão membrana citoplasmática, desnaturação.
 ↑ *Concentração = bactericida*
 ↓ *Concentração = bacteriostático*
- Espectro de ação: Gram (+) e (-), bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR).
- Tempo de exposição: alguns minutos.
- Desvantagem: irritante para a pele e odor desagradável.



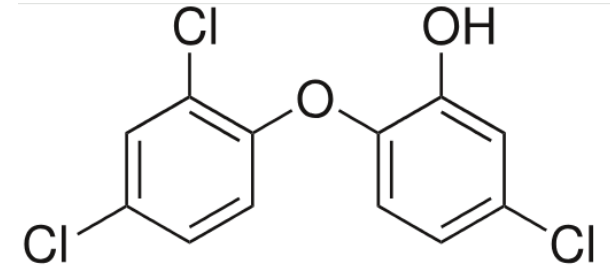
em detergentes ou sabão reduz as qualidades irritativas com aumento da atividade antibacteriana

- Vantagem: ação residual .

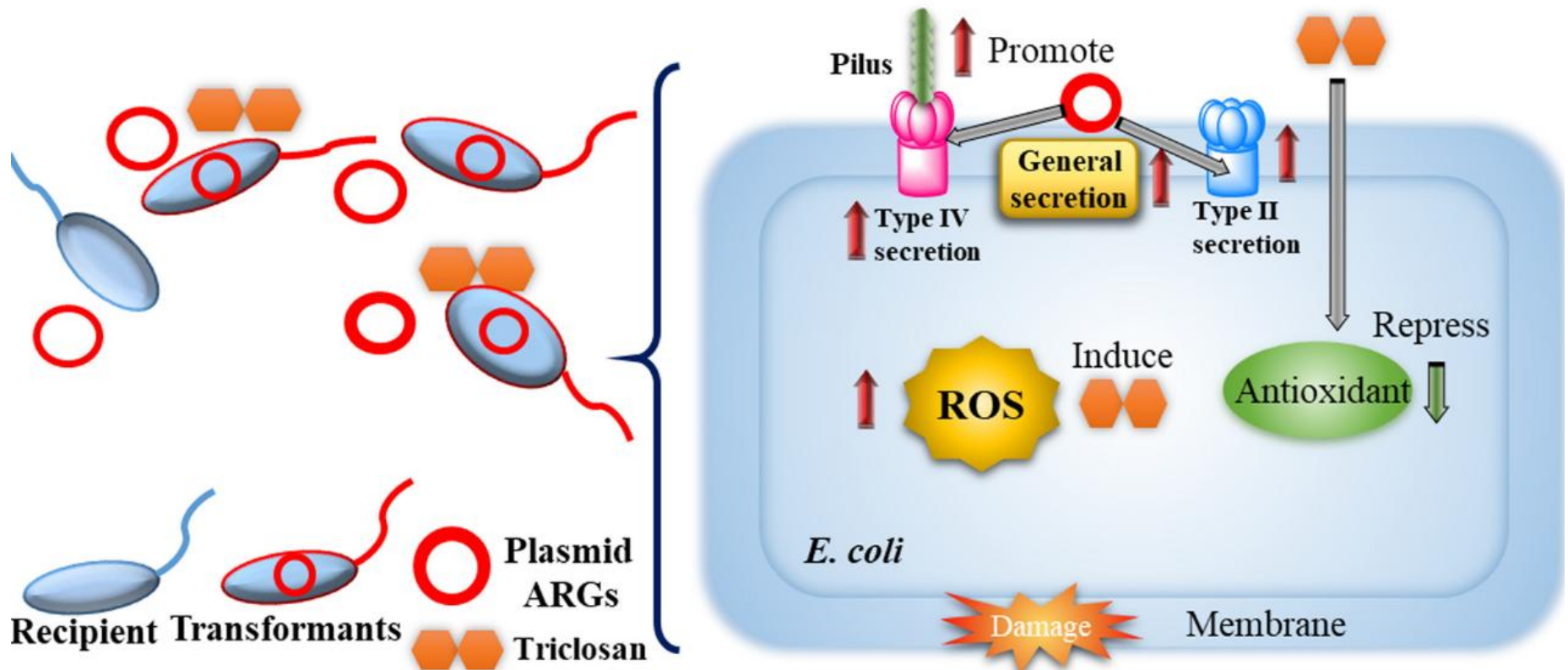


Triclosan: fenoxifenois policlorados

É usado como anti-séptico e também como conservante em cosméticos



Triclosan increases ARGs transformation frequency



Halogênios



1. Iodo

- Aplicação: antisséptico, desinfetante de pequenas quantidades de água (sanificar utensílios de alimentação), desinfetantes de ar (vapores).
- Mecanismo de ação: Agente oxidante
- Espectro de ação: Gram (+) e (-), BAAR, esporos, fungos, vírus e amebicida.
- Tempo de exposição: alguns minutos.
- Desvantagem: presença de material orgânico diminui sua eficiência.
- Vantagens: ótimo agente microbicida.

Halogênios

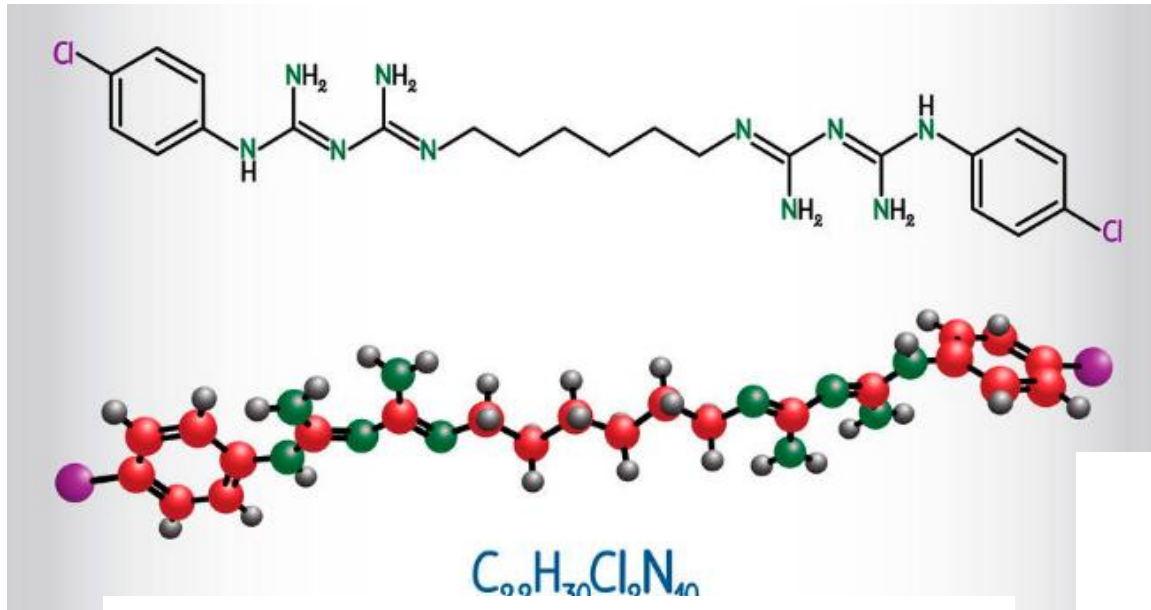


Ação microbicida ocorre somente na forma de ácido hipocloroso (HOCl), que se forma quando o cloro é adicionada à água → 250ppm/15min

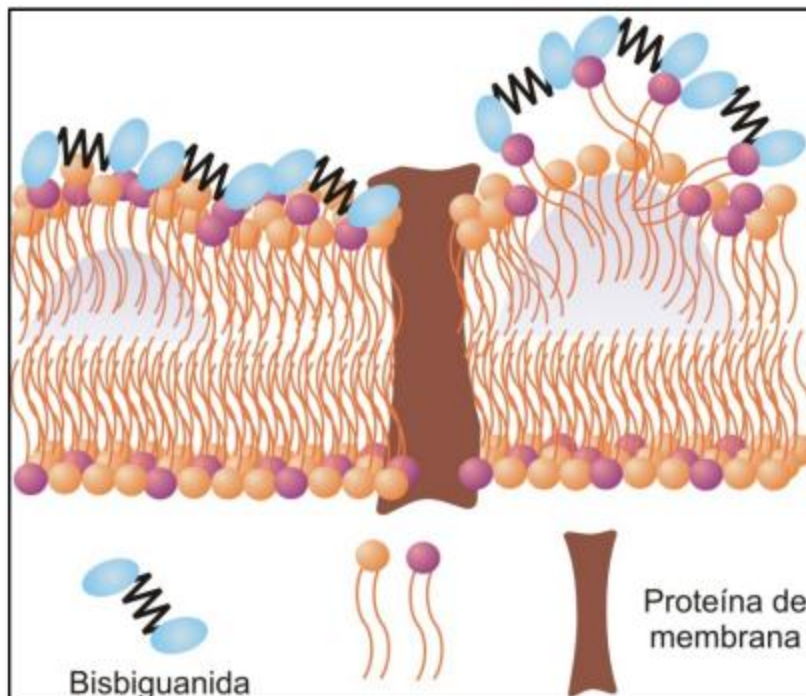
2. Cloro

- Aplicação:
 - Cl gasoso liquefeito = água potável, piscinas e sistemas de tratamento
 - Hipoclorito de cálcio = sanitização de utensílios de restaurantes e equipamentos de laticínios
 - Hipoclorito (1%) = desinfecção doméstica e de alimentos (verduras, legumes e frutas)
- Mecanismo de ação: Agente oxidante → $\text{HCl}^- + \text{O}^+$
- Espectro de ação: Gram (+) e (-), fungos
- Tempo de exposição: alguns minutos.
- Desvantagens: Irritante para a pele e corrosivo.
- Vantagens: grande disponibilidade, baixo custo, ação residual.

Biguanida: Clorexidina



clorexidina: 0,20% e 0,12% mucosa.



Metais pesados e seus compostos

- Mecanismo de ação: Inativação de proteínas.
- Espectro de ação: Gram (+) e (-)
- Tempo de exposição: enquanto em contato.
- Desvantagem: intoxicação por absorção.
- Vantagens: ↓ quantidades ↑ poder microbicida
- Aplicações:

MERCÚRIO ORGÂNICO: pequenos cortes, feridas e infecções de pele.

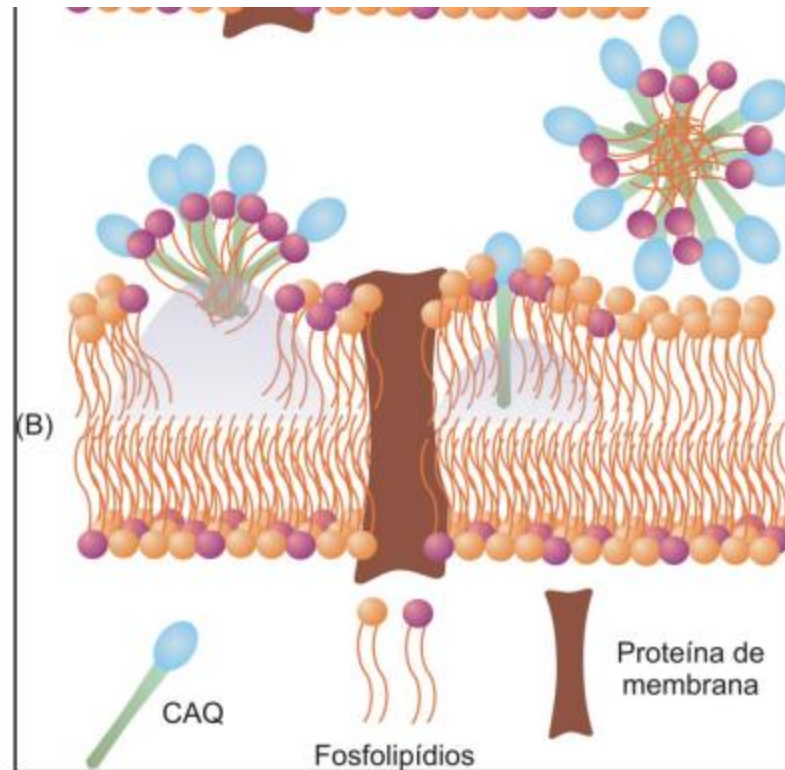
Merbromin



Timerosal - mertiolate

Nitromersol

Amônios quaternários: Cloreto de cetilpiridínio e benzoalcônio



Agentes Oxidantes

- Aplicação: uso doméstico em geral, antisséptico de pequenas feridas.
- Mecanismo de ação: oxidação dos constituintes celulares.
- Espectro de ação: Gram (+) e (-), fungos.
- Tempo de exposição: enquanto estiver em contato.
- Desvantagem: baixa atividade residual.
- Vantagem: baixo custo.

Peróxido de Hidrogênio 3%

