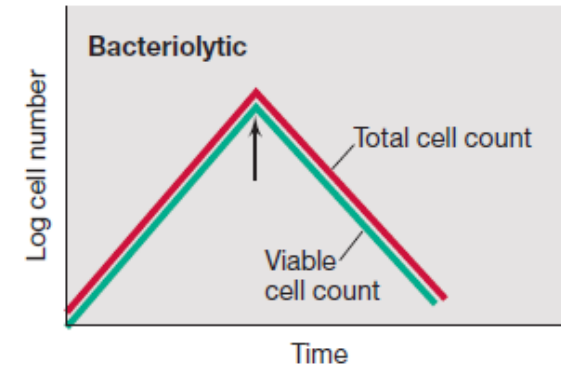
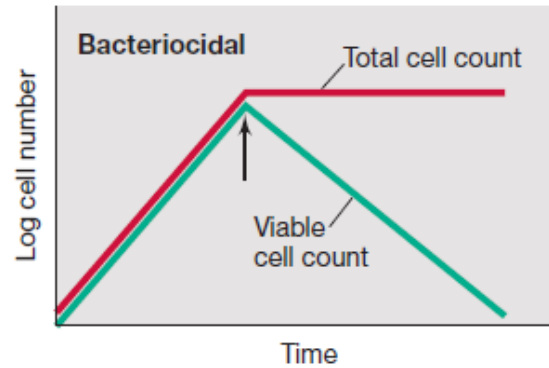
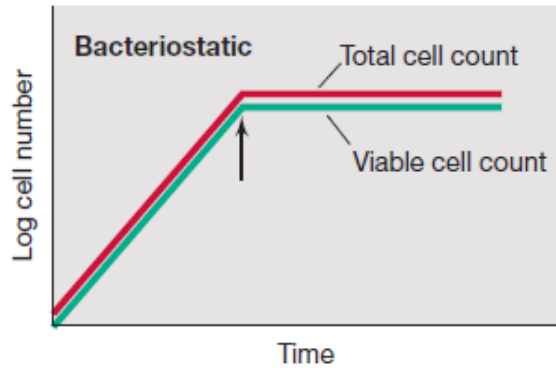




Controle do Crescimento Microbiano: Agentes Físicos e Químicos

Cristiane R. Guzzo Carvalho
BMM0260- 01/10/2020

CLASSES DE AGENTES QUÍMICOS NO CRESCIMENTO MICROBIANO





**QUAIS SÃO OS FATORES QUE AFETAM A
EFICIÊNCIA DO AGENTE QUÍMICO OU FÍSICO
CONTRA MICROORGANISMOS?**

TAXA DE MORTE CELULAR

Afeta a Eficiência do Agente Químico:

- **Tempo de Exposição**
- **Tipo de Microorganismo** (Biofilme, endosporo, Características das Membramas)
- **Concentração do Agente Químico**
- **Presença de outros Compostos Orgânicos, pH e temperatura.**

TABLE **7.2** Microbial Exponential Death Rate:
An Example

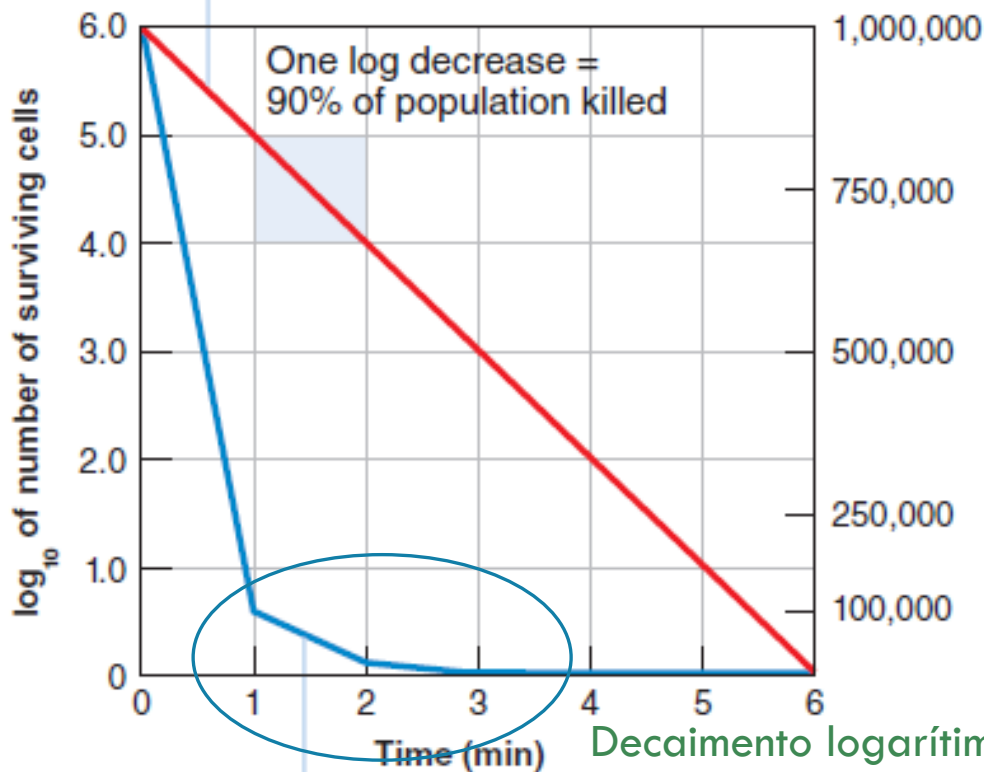
Time (min)	Deaths per Minute	Number of Survivors
0	0	1,000,000
1	900,000	100,000
2	90,000	10,000
3	9,000	1,000
4	900	100
5	90	10
6	9	1

Tempo em Função de Morte Celular

TEMPO DE EXPOSIÇÃO E POPULAÇÃO MICROBIANA

1. Efeito do tempo de exposição

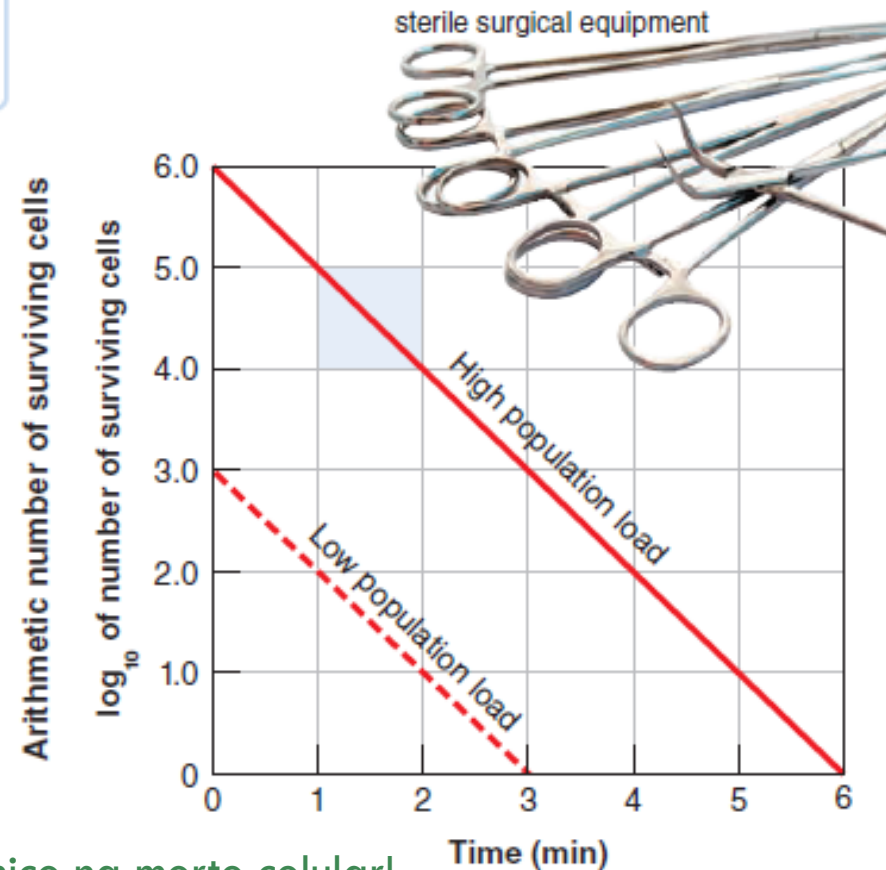
Plotting the typical microbial death curve logarithmically (red line) results in a straight line.



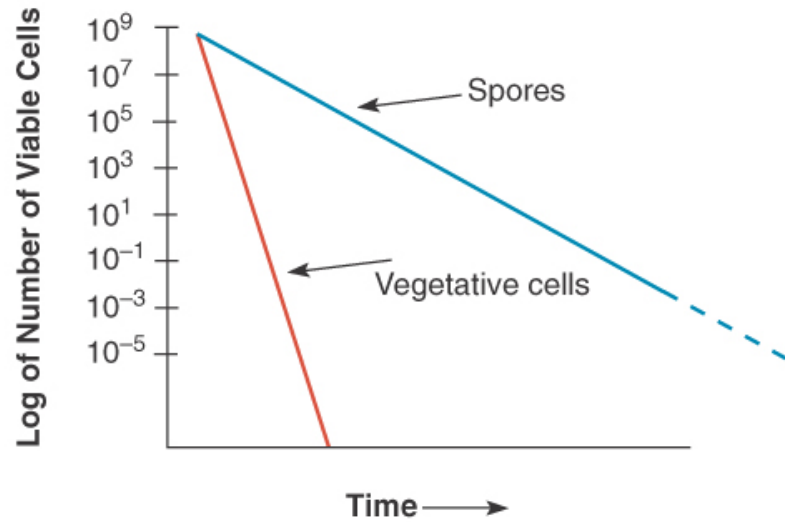
Decaimento logarítmico na morte celular!

- Em 1min matou 10⁵ e nos próximos 2 min matou 10 células

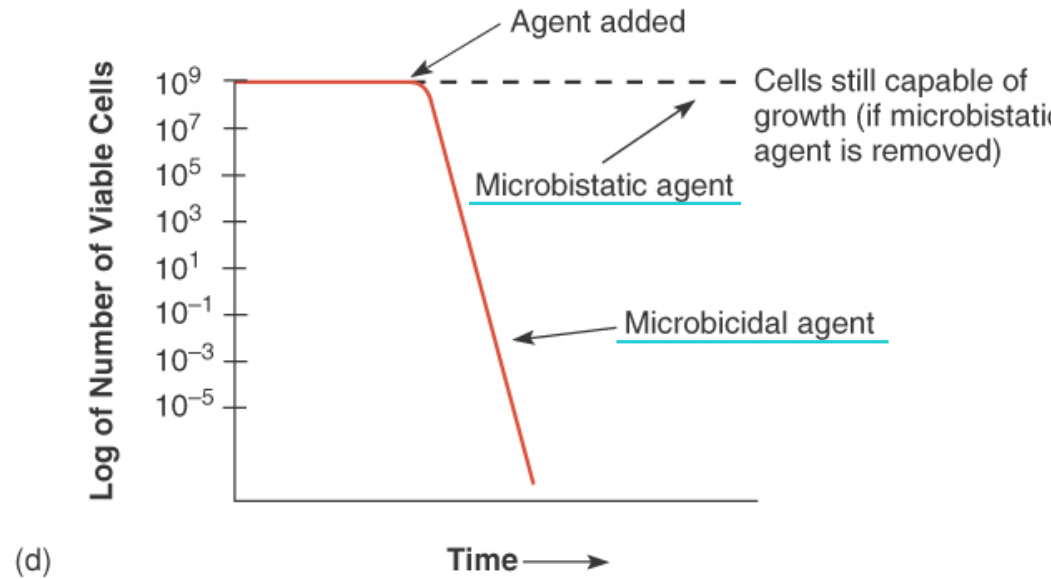
2. Efeito da População



3. Efeito do Tipo de célula: Células Vegetativa & Esporos



4. Efeito Bactericida & Bacteriostático





QUAIS SÃO OS ALVOS DE
AÇÃO DO AGENTE
QUÍMICO OU FÍSICO?

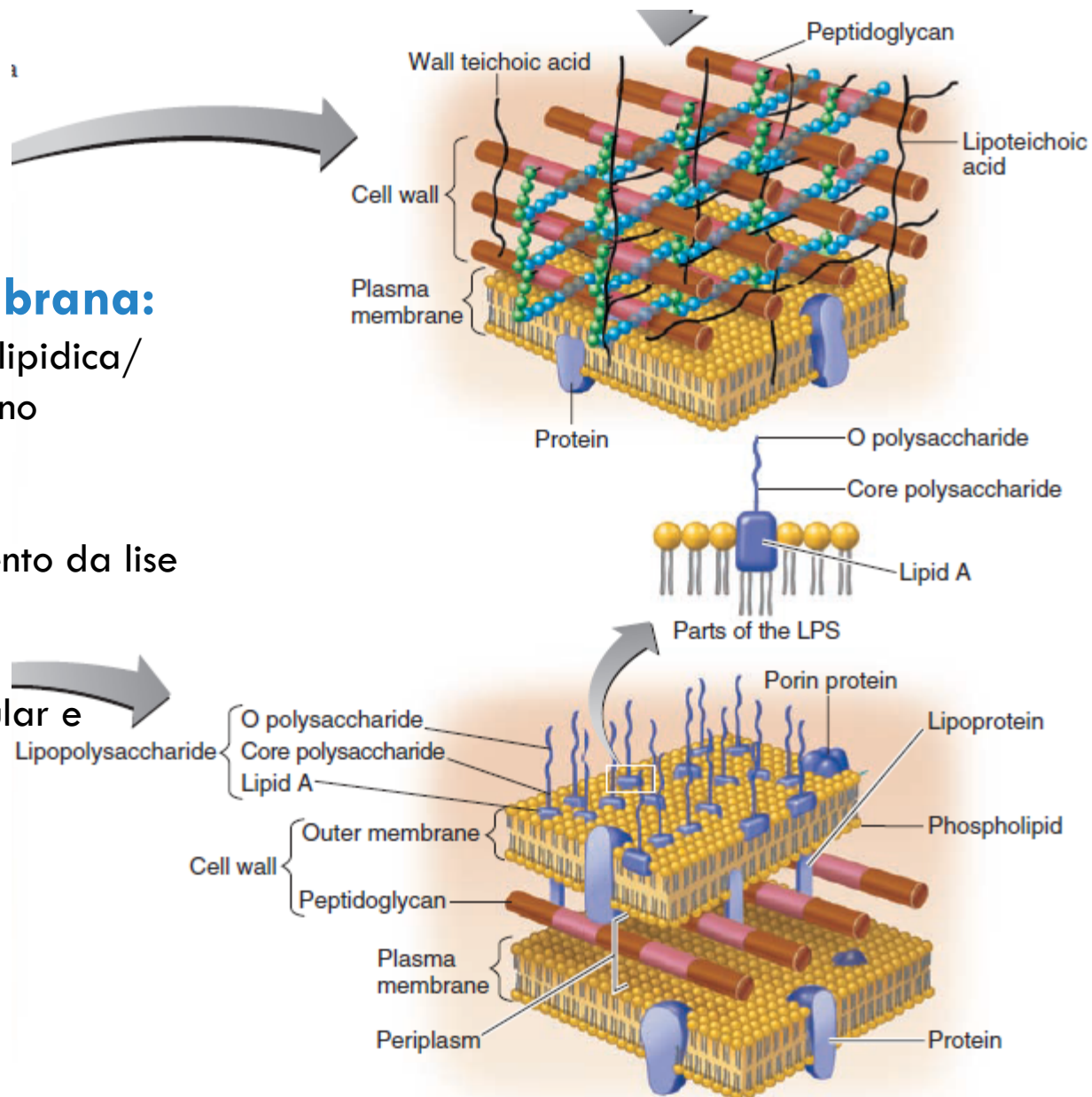
ALVO DOS AGENTES QUÍMICOS

1. Parede Celular e membrana:

Alvo: Proteínas/Camada fosfolipídica/
Lipopolisacarídeos/ peptidoglicano

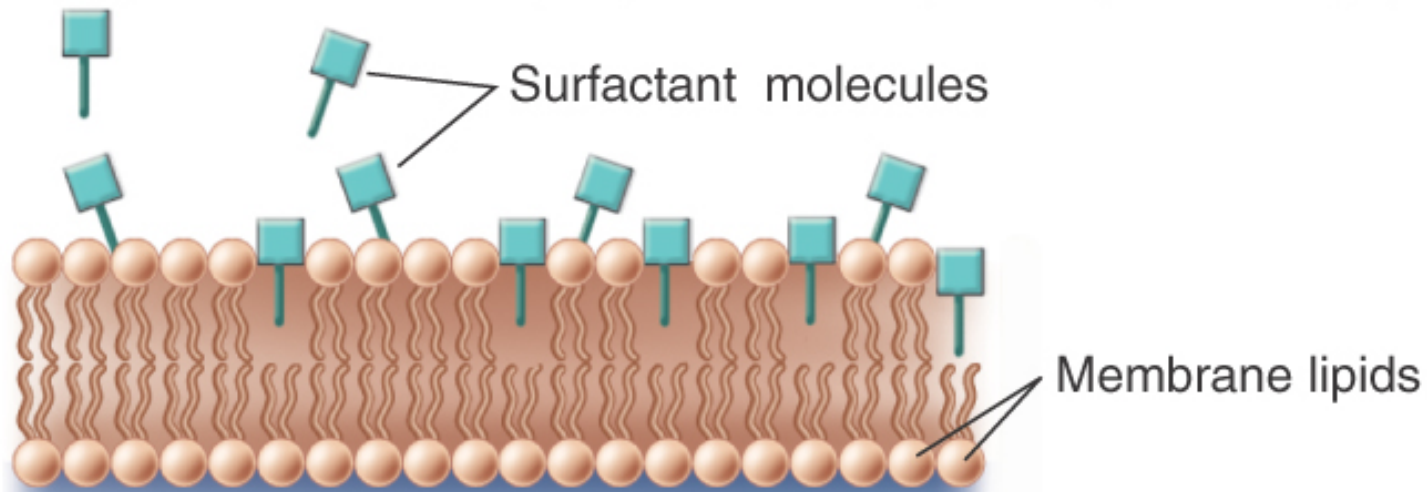
Ação: Afeta a permeabilidade
Síntese, rompimento, favorecimento da lise
celular

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



Alvo Dos Agentes Químicos e Físicos

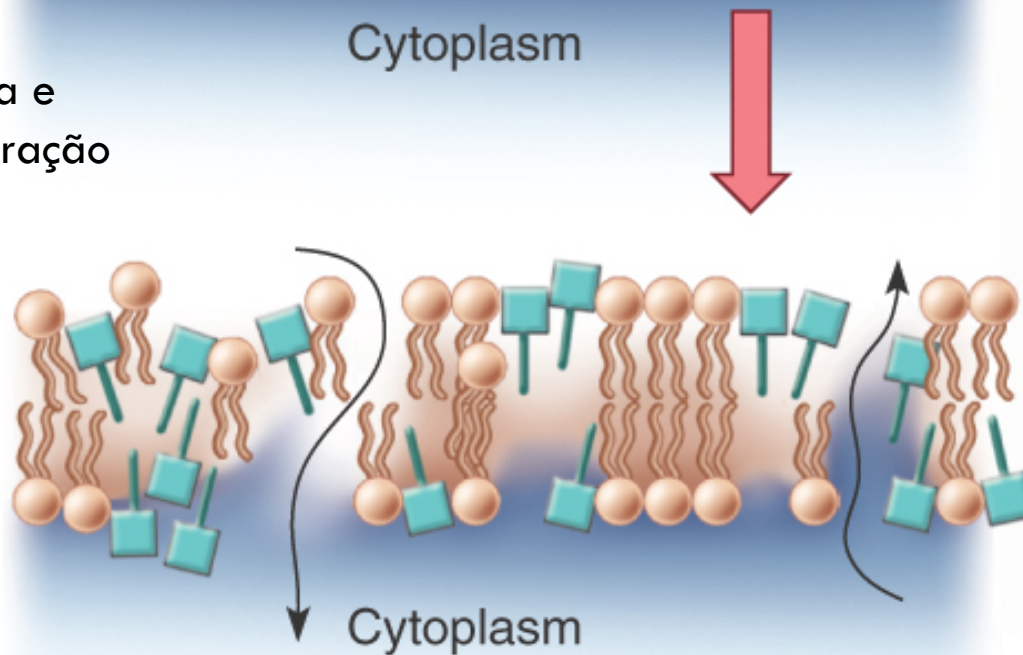
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Exemplo:

Surfactantes:

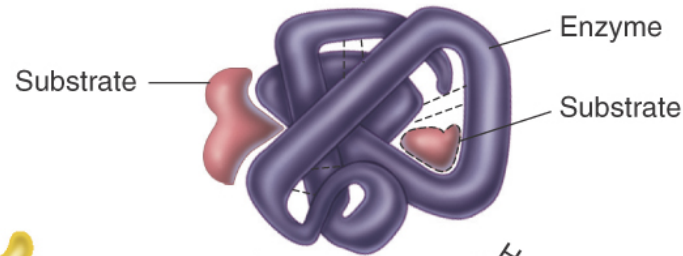
- Dissolve a membrana e pode causar a desnaturação de proteínas



Alvo Dos Agentes Químicos e Físicos

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

(a) Native State



(b) Complete Denaturation

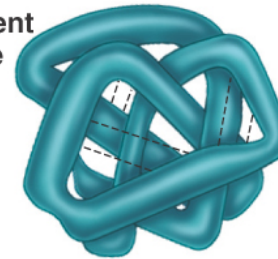


Heat
pH Change

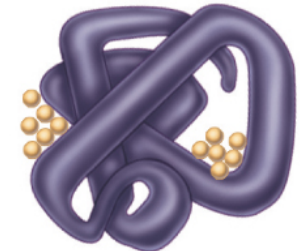
Heat
pH Change

Heavy metal

(c) Different Shape



(d) Blocked Active Site



Active site can no longer accept the substrate, and the enzyme is inactive.

2. 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

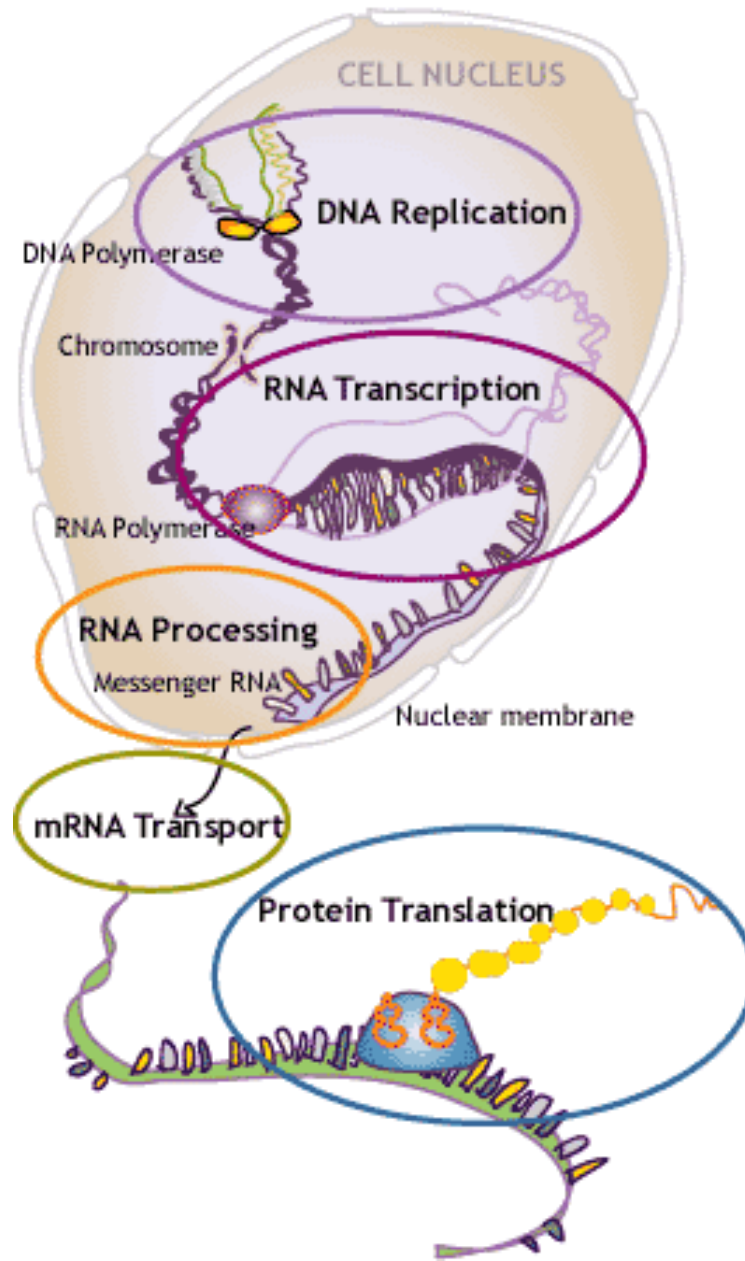
Célula eucariótica ou procariótica?

3. 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





**QUAIS TIPOS DE LIMPEZA
PODEM SER FEITOS?**

CLASSIFICAÇÃO DOS AG. QUÍMICOS E FÍSICOS COM BASE: EFETIVIDADE E TOXICIDADE AO HOMEM

- 1. Esterilizantes:** Mata tudo, inclusive endosporos
- 2. Desinfetantes:** Mata tudo menos endosporos, reduz contaminação na superfície de objetos inanimadas
- 3. Antissépticos e Germicidas:** Matam ou inibem o crescimento da maioria dos microorganismos, pode ser usado na superfície da pele
- 4. Sanitizantes:** Reduz a níveis considerados seguros

Classificação dos Ag. Químicos/Físicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

1. Esterilizantes: Mata tudo, inclusive endosporos

Tenta por calor ou radiação primeiro

1- Esterilização a frio: Camera de Gás: Oxido de Etileno, formaldeido, ácido peroxiacético, H_2O_2 .

Ex. Usado em Hospitais: termômetros, cateteres, ...

2- Esterilizantes Líquidos:

Água sanitaria, amilfenol

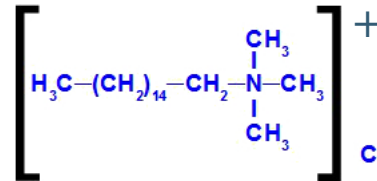
Ex. Instalações que não toleram altas temperaturas nem o gás.

Classificação dos Ag. Químicos/Físicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

2. Desinfetantes: Mata tudo menos endosporos, reduz contaminação na superfície de objetos inanimadas.

Usado em objetos Inanimados
Mata as células vegetativas

1- Álcool e Detergentes Catiônicos



Cátion é o quartenário de amônio

Ex. Hospitais e Consultórios Médicos.

Descontaminação de pisos, mesas, bancadas, paredes.

Classificação dos Ag. Químicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

3. Antissépticos e Germicidas: Matam ou inibem o crescimento da maioria dos microorganismos, pode ser usado na superfície da pele

Atóxicos a Superfície da pele Humana

Existem Antissépticos que também são desinfetantes.

Ex: álcool :

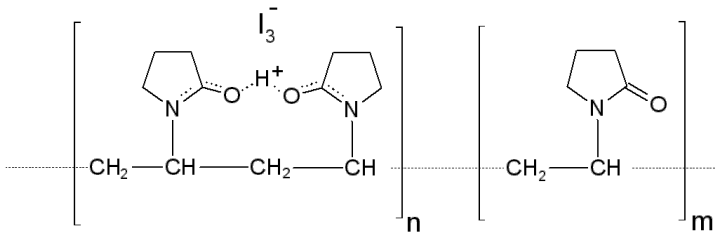
Altas concentrações e períodos longos: Desinfetante
(ex. 70% de Etanol)

60-85% de álcool ou isopropanol: Antisséptico

Ex. Lavagem das mãos e tratamento de feridas.

EXEMPLOS DE ANTISSÉPICOS

Iodopovidona



iodo com polivinilpirrolidona (PVP)



Tintura de iodo

iodo elemental (I₂) com álcool



Álcool em gel

70% de álcool



ANTISSÉPTICOS

Septicemia, sepse ou sépsis:

(do grego *Σήψις*, *septikós*, que causa putrefação + *haíma*, sangue) é o crescimento de **microorganismos no sangue ou em outro tecido**. Causa uma infecção geral grave do organismo por patógenos.

Asepsie:

Qualquer prática para prevenir a entrada de qualquer microorganismos em tecidos estéreis, como o sangue.

Classificação dos Ag. Químicos com Base: Efetividade e Toxicidade ao Homem

4. Sanitizantes: Reduz a níveis considerados seguros

1- Detergentes e sabão

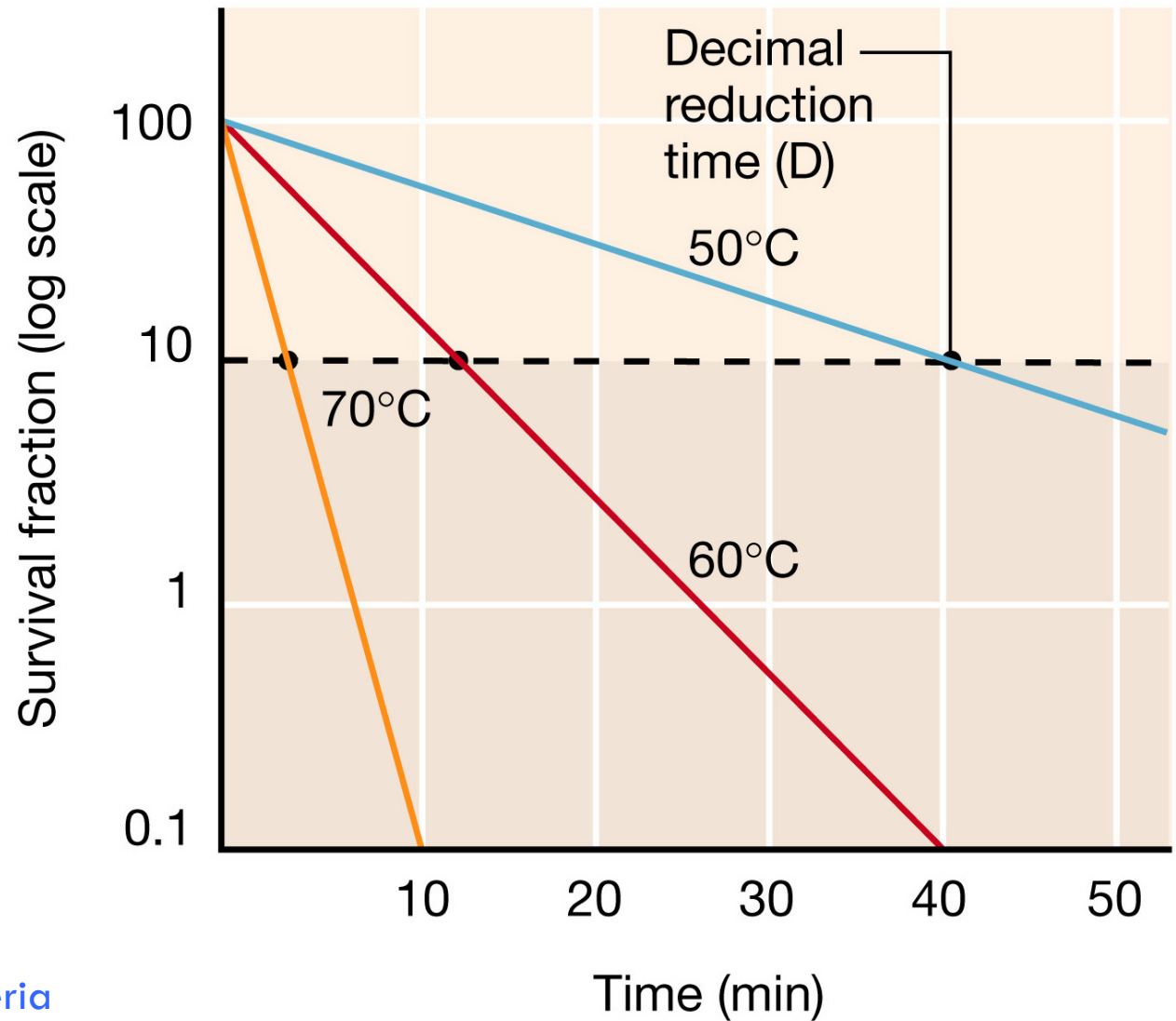
Ex. Indústria Alimentícia

Lavagem de louças e utensílios, pisos, paredes, carpetes entre outros.



EXEMPLOS DE AGENTES FÍSICOS NO COMBATE À MICROORGANISMOS

1. Calor



Efeito da temperatura na viabilidade de uma bactéria mesofílica

Decimal reduction time (min)

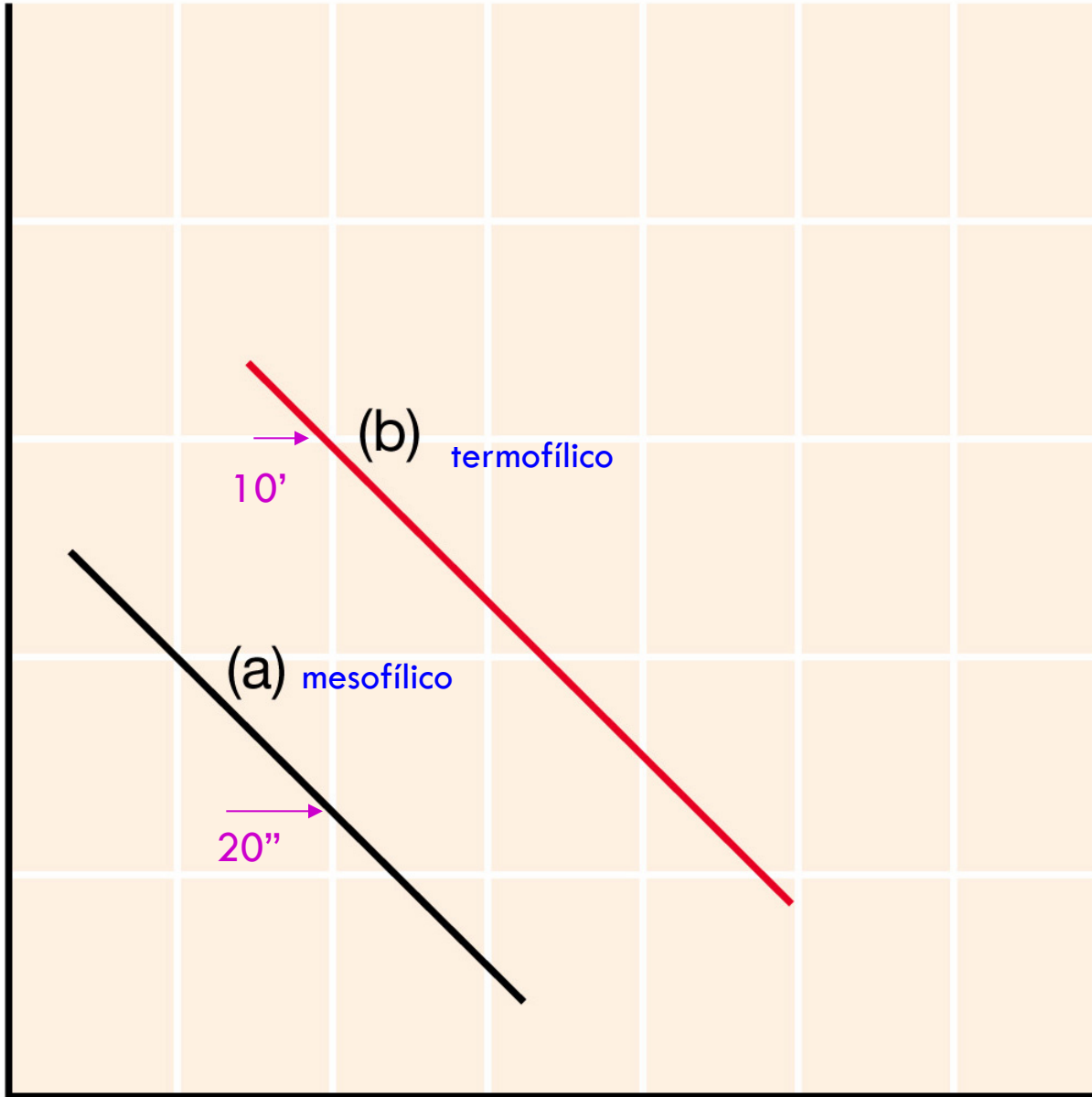
100
10
1
0.1

105 110 115 120 125 130

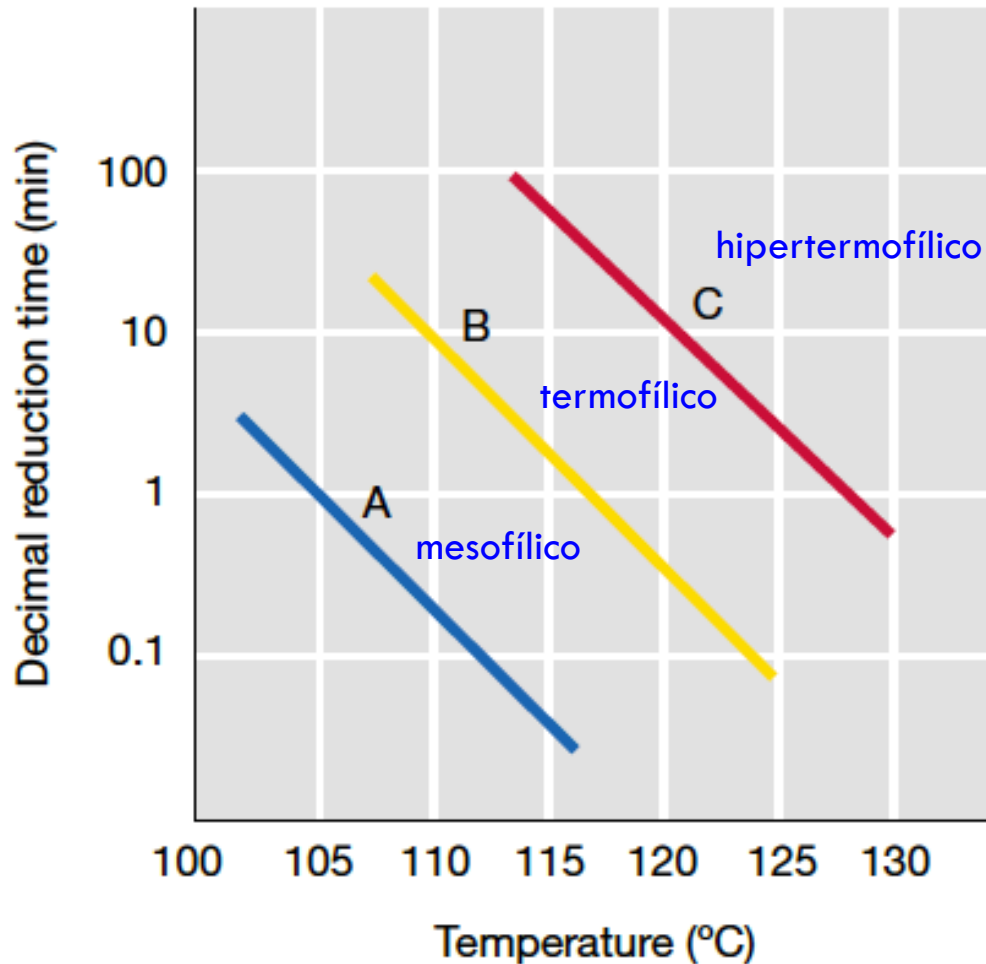
Temperature (°C)

(b) termofílico
10'
(a) mesofílico
20''

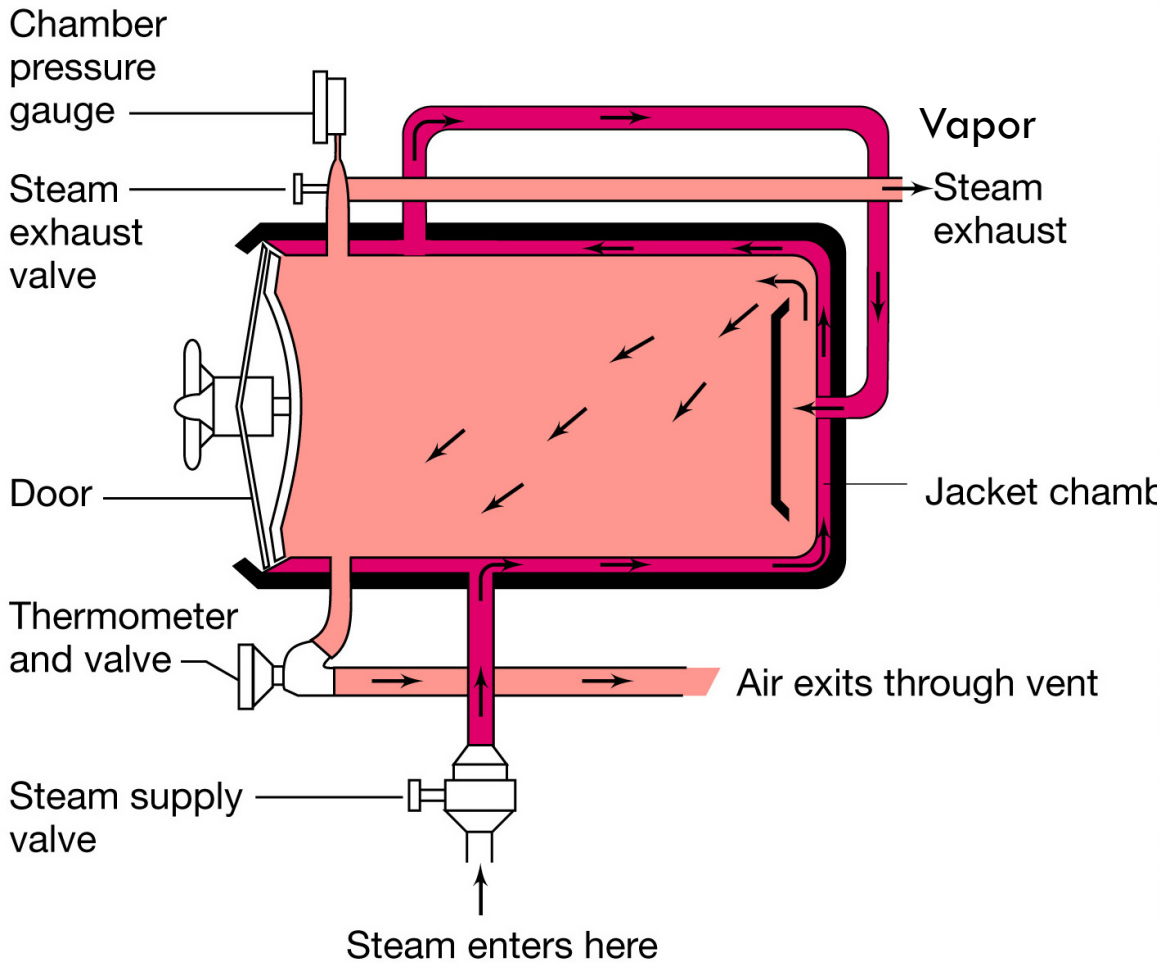
Relação da temperatura na taxa de morte por diferentes tipos de células



Que microrganismos são?

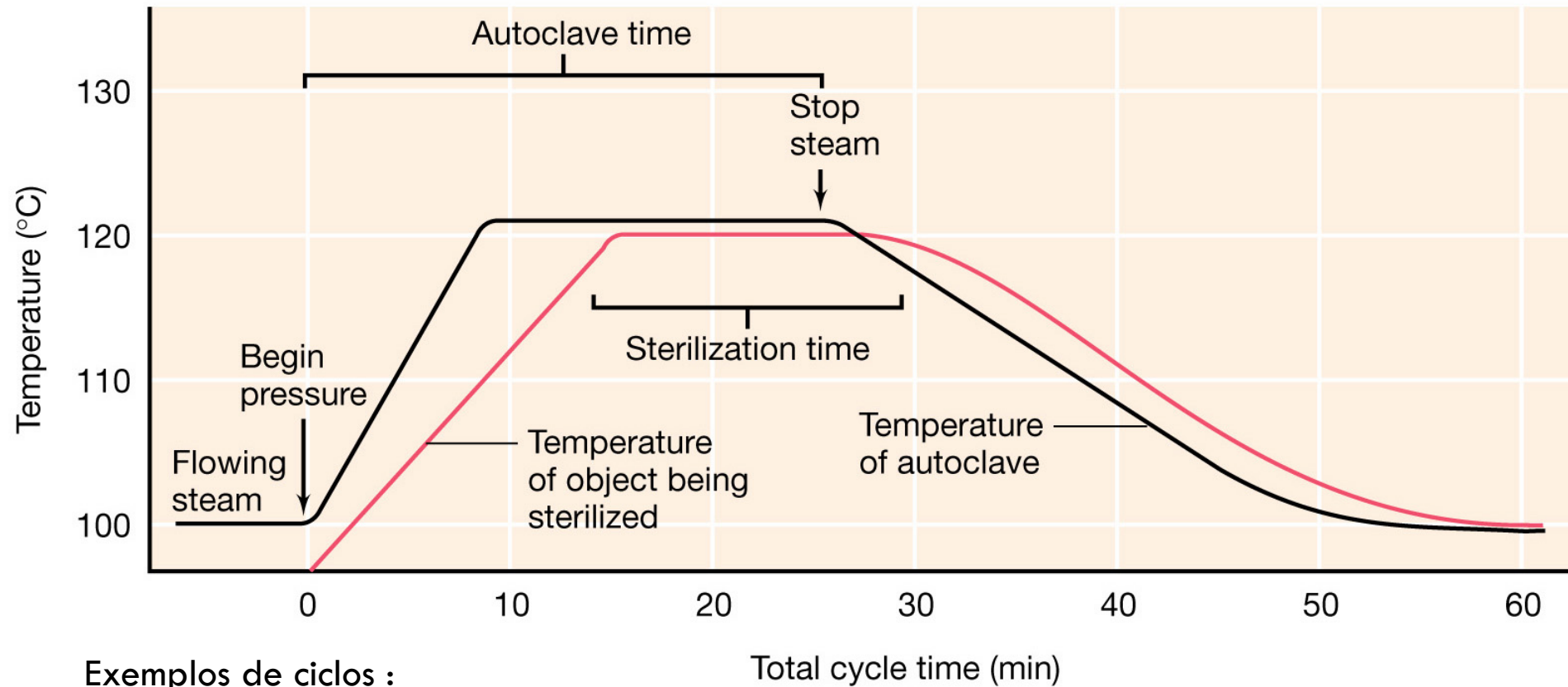


AUTOCLAVE HÚMIDA



(c)

CICLO DE AUTOCLAVE – EXISTEM VÁRIOS CICLOS E VÁRIOS TIPOS DE AUTOCLAVES



Exemplos de ciclos :

A. 15 psi A. 121 °C

B. 20 psi B. 126 °C

PASTEURIZAÇÃO – OCORRE UM CHOQUE TÉRMICO (GARRAFAS OU EM PLÁSTICO)

- 63 -66 °C/30 minutos e resfriamento lento (perde propriedades) ou
- 73 °C/15 segundos e resfriamento rápido (pasteurização rápida) ou
- 140 °C/1 segundo

Processo de [redução de microorganismos patogênicos](#);

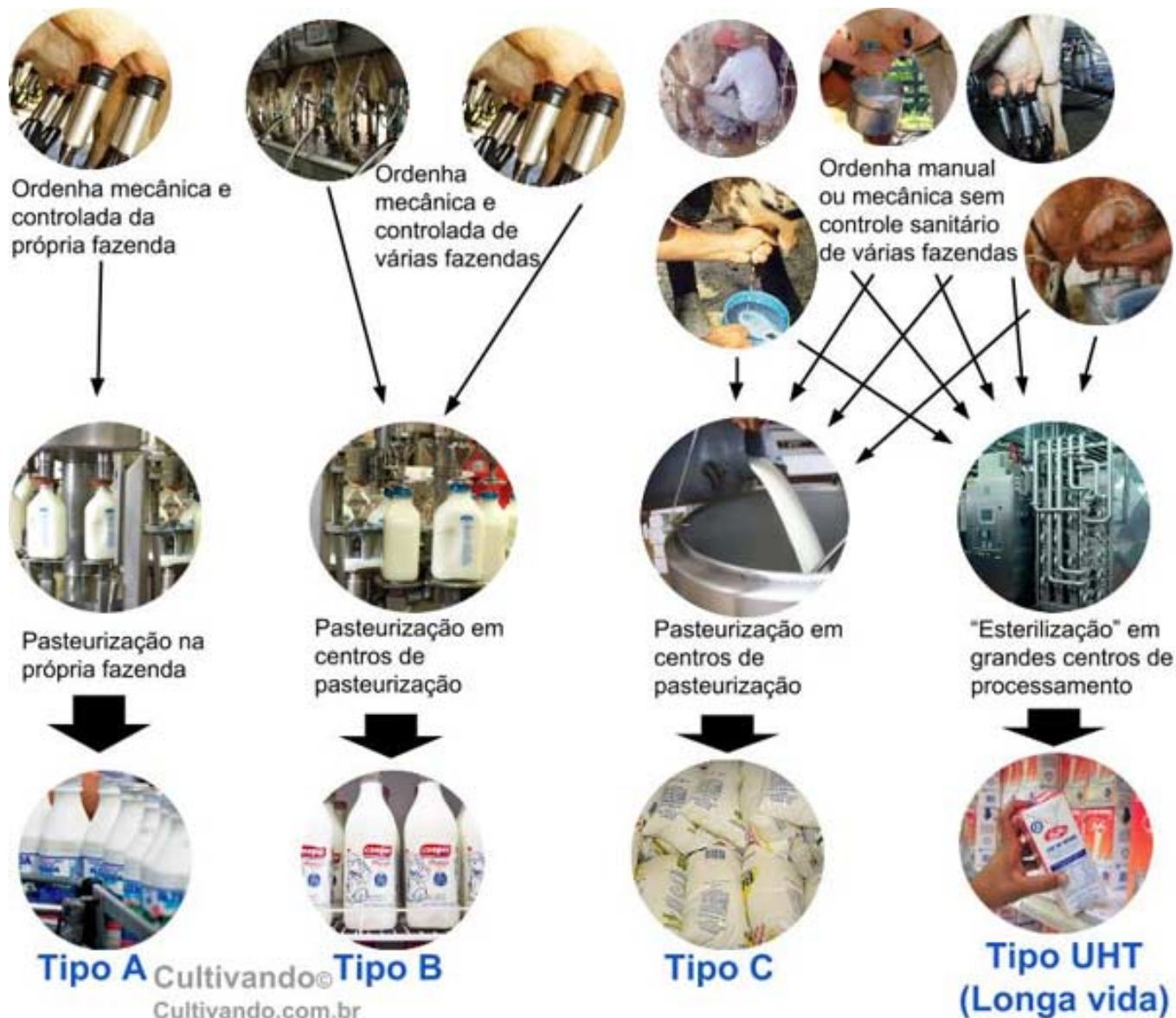
[Aumenta a vida útil do alimento](#);

Desenvolvido por Louis Pasteur para que o vinho parasse de estragar

Matar os agentes causadores de tuberculose, brucelose, febre tifoide causado pelo leite não fervido.

LEITE UHT (ULTRA HIGH TEMPERATURE) - CAIXAS

O leite é homogeneizado e submetido a uma temperatura de 130 a 150°, entre 2 e 4 segundos, e imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C



Tipo A Cultivando

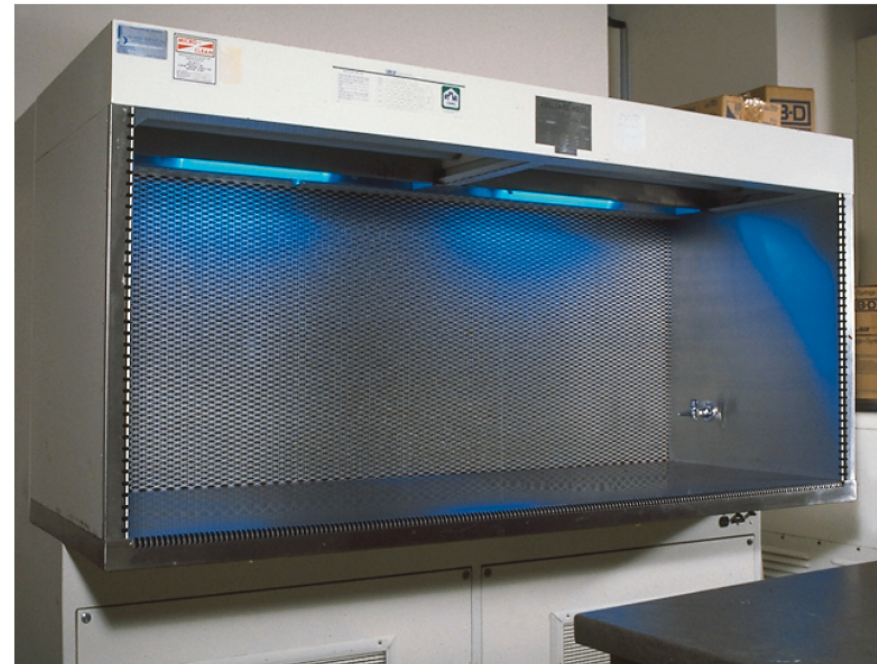
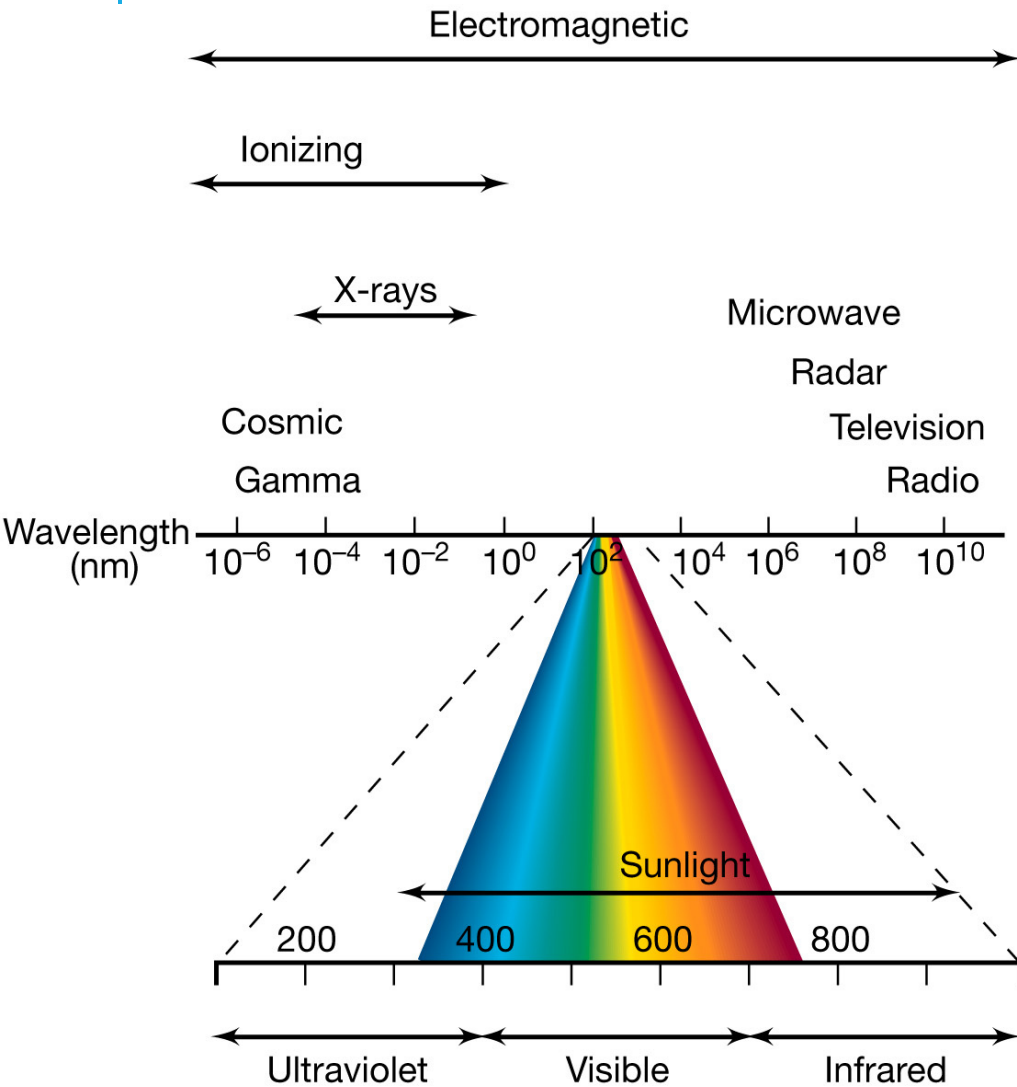
Cultivando.com.br

Tipo B

Tipo C

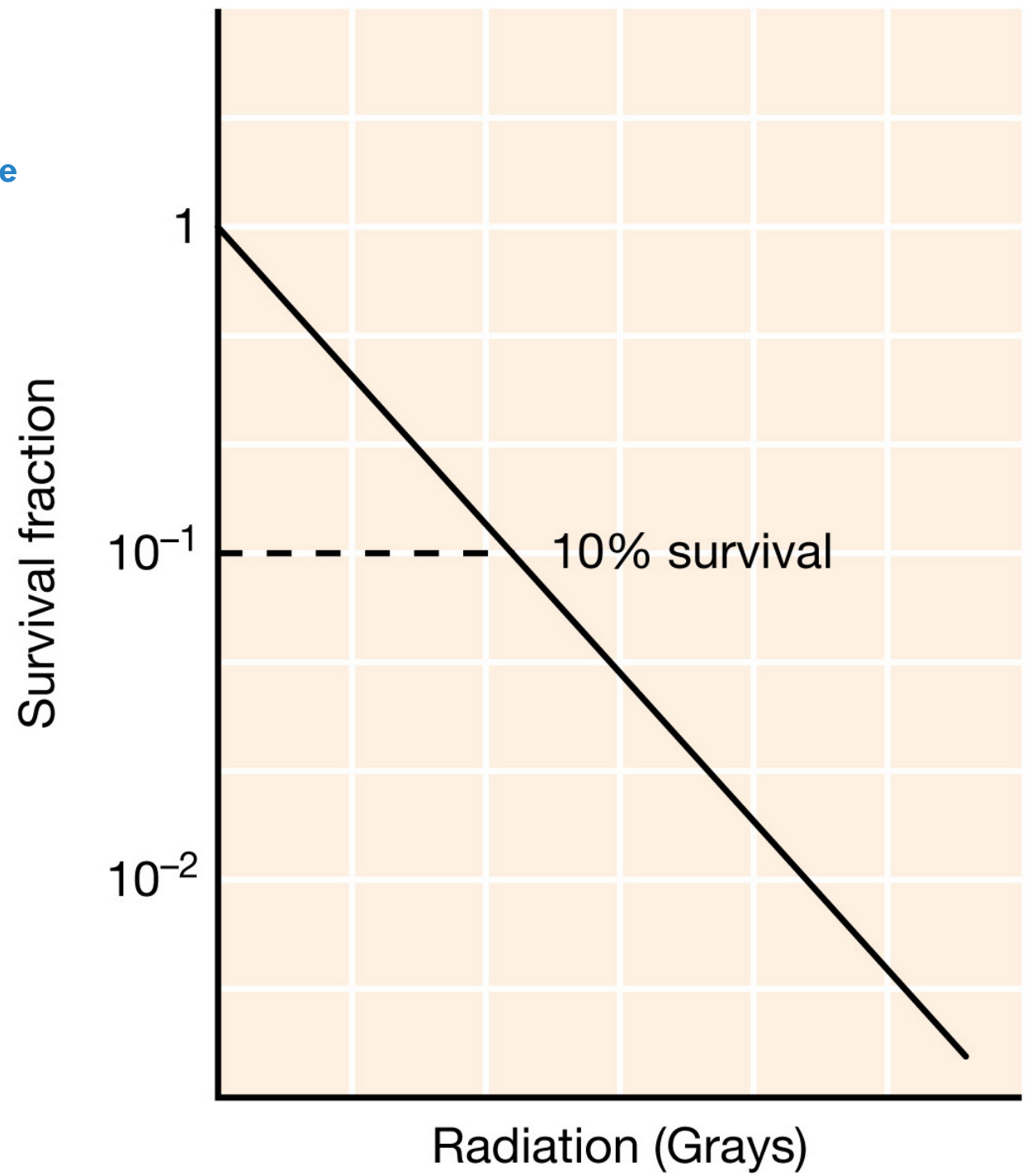
Tipo UHT
(Longa vida)

2. ESTERILIZAÇÃO POR RADIAÇÃO



Ação bactericida : UV - 270 e 230 nm

Relação entre a fração de sobrevivência e a dose de radiação

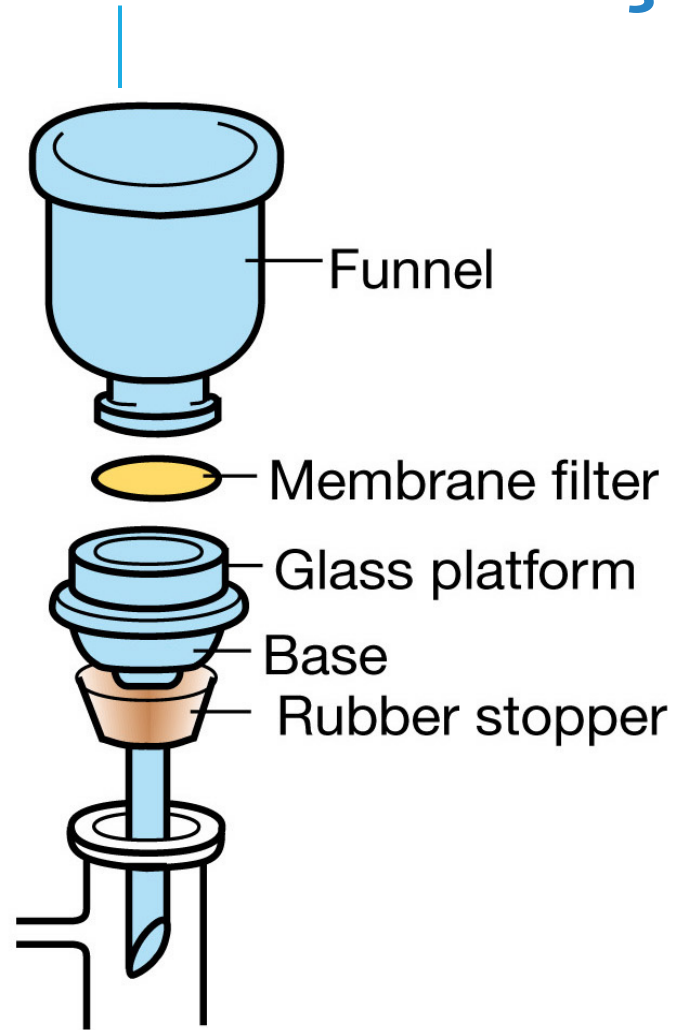


SENSIBILIDADE DE MICRORGANISMOS E FUNÇÕES BIOLÓGICAS À RADIAÇÃO

Espécie/ função	Microrganismo	Dao (Gy) grays
<i>Clostridium botulinum</i>	G+, anaérobica, esporulante	3.300
<i>Clostridium tetani</i>	G+, anaérobica, esporulante	2.400
<i>Bacillus subtilis</i>	G+, aeróbia, esporulante	600
<i>Salmonella typhimurium</i>	G-	200
<i>Lactobacillus brevis</i>	G+	1.200
<i>Deinococcus radiodurans</i>	G-	2.200
<i>Aspergillus niger</i>	Fungo	500
<i>Sacharomyces cereviseae</i>	Levedura	500
Febre aftosa	virus	13.000
Inativação enzimática		200.00-500.00
Desinfestação insetos		1.000-5.000

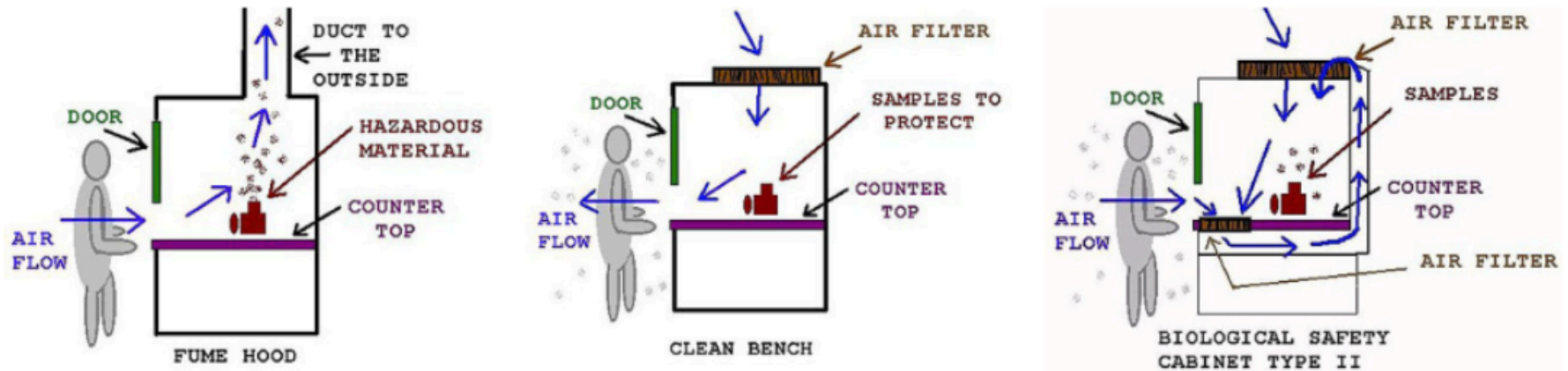
3. ESTERILIZAÇÃO POR FILTRAÇÃO

Filtros de 0.22 μM e 0.45 μM



(a)

USO DE FILTROS PARA MANIPULAÇÃO DE MICRORGANISMOS



Fume hood: Protect you from fumes you are working with. The fan sucks in the air toward the duct inside of the fume hood towers the outside. This system works only if you bring the hood's door down at least 2/3 of the way. The narrower the opening, the swifter the air.

Laminar flow cabinet: Protect your samples from contamination coming from your and the room. The air is blown at you.

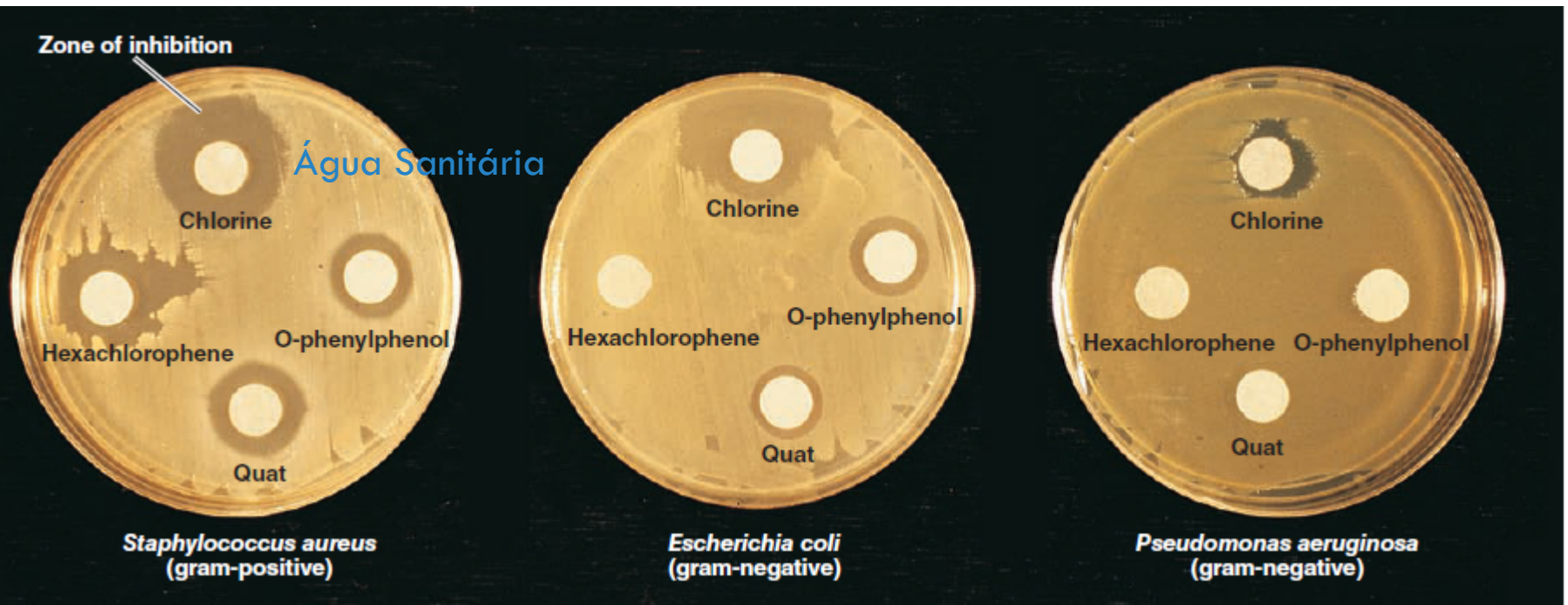
Biological safety cabinet: Protect you, your samples and your environment from particulate contamination. They are NOT designed for harsh or radio-labelled chemicals. To be used for work with low to moderate risk agents NOT with high-risk pathogens. HEPA(High Efficiency Particulate Air) is the essential component of these cabinets.



EXEMPLOS DE AGENTES QUÍMICOS

AVALIAR O EFEITO DO AGENTE QUÍMICO.

Metódo de Difusão do Disco



MECANISMO DE AÇÃO



1. Aqua

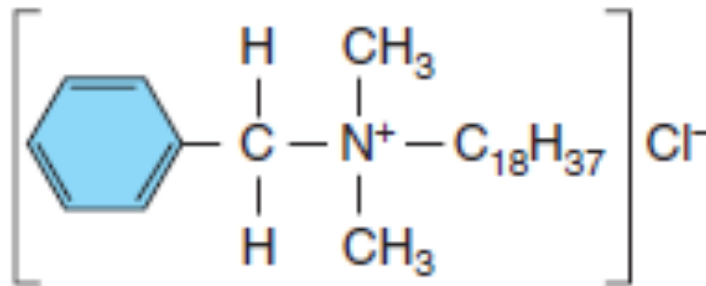
Encontrado em sabonete (base um sabão – gordura natural – animal ou vegetal)

Composição:

1- aqua e alguns possíveis sinérgicos como EDTA

Aqua: Compostos quartenários de Amônio

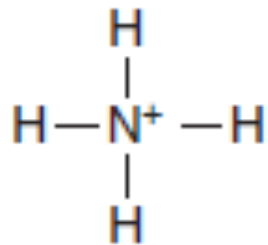
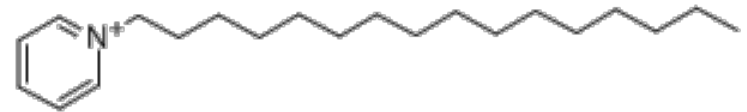
Zephiran



Benzalkonium chloride

Cepacol

Detergente Catiônico^{Cl⁻}



Ammonium ion

Mecanismo de Ação: Aqua

Bactericida para G+ menos eficiente G-

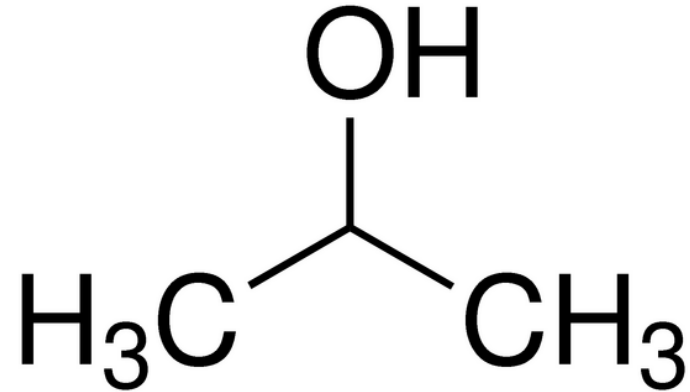
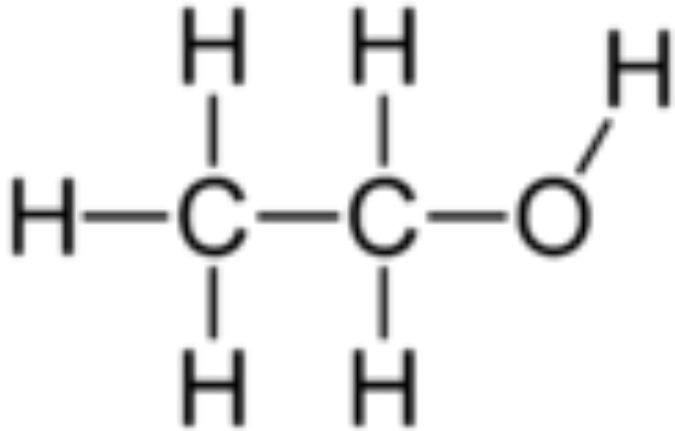
Ação: Afeta a Membrana Plasmática (M.I), afetando a permeabilidade.

Perda de constituintes de M.I como K^+

Encontra: Listerine, Colgate, Pasta de dente Oral-B,

Pseudomonas é resistente.

3. ÁLCOOL: ETANOL E ISOPROPANOL ANTISSÉPTICO E DESINFETANTE



- Mata bactérias e fungos, mas não endosporos
- Desnatura Proteínas
- Dissolve membrana
- Dissolve vários Lipídios

70% 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

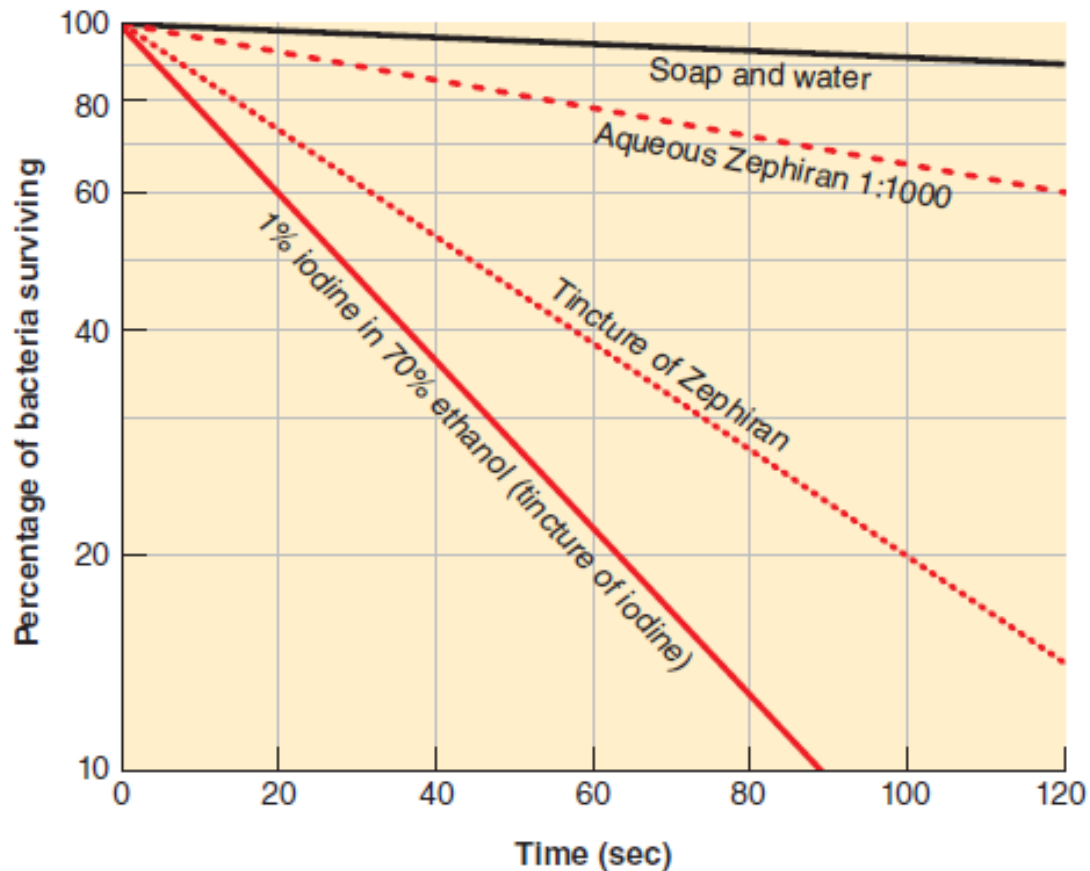


Fixa a Bactéria – Atua apenas na Membrana Externa

ÁLCOOL COMO SINERGÉTICO PARA OUTROS AGENTES QUÍMICOS

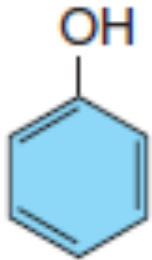
Etanol e Isopropanol é usado como sinérgico

Como em conjunto com Zepherin (Aqua)

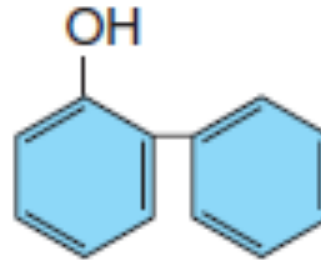


4. FENOL E FENÓLICOS

Cresol –
Ótimo desinfetante de Superfícies



(a) Phenol



(b) O-phenylphenol

Fenol e Fenólicos

Ação: Age na Membrana plasmática – ocasionando o vasamento do conteúdo celular – Morte celular.

Uso: Usado no controle de infecção em mesas cirúrgicas

1% fenol tem ação antibacteriano forte

Estável e não afetado por comp. orgânicos

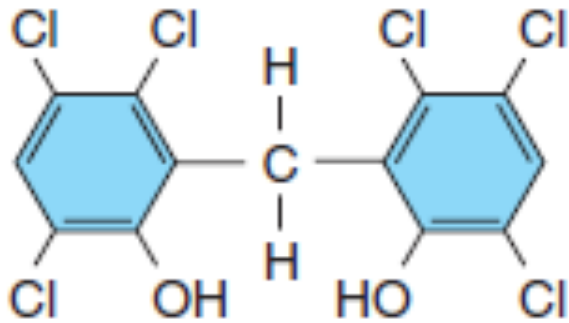
- **Desinfecção de pus, saliva, fezes.**

Raramente usado como antiséptico ou desinfectante

- Irritante para a pele

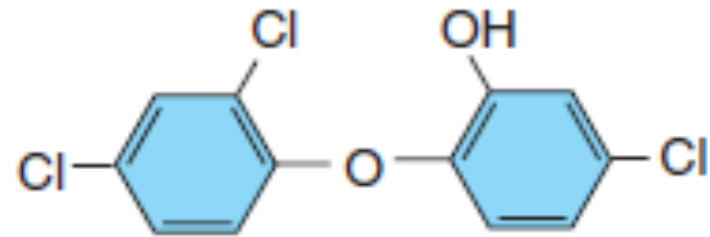
- Odor

BISFENOL



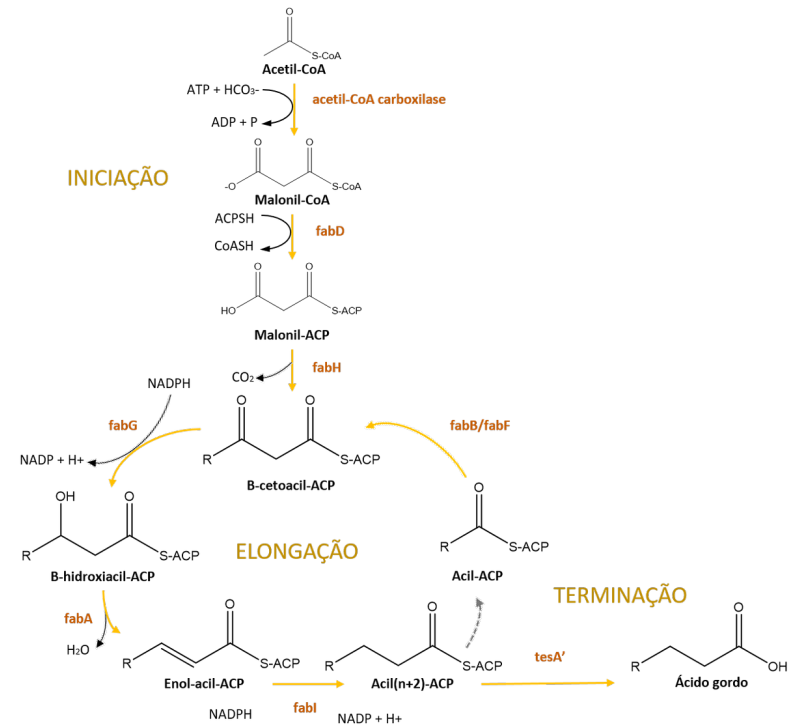
(c) Hexachlorophene (a bisphenol)

Pastas de Dentes
Sabões



(d) Triclosan (a bisphenol)

Bisfenol - Ação



Triclosan:

- Em baixas concentrações inibe a ação da Enzima *FabI*, biossíntese de ácidos graxos (lipídios) inibindo a síntese de membrana e crescimento (bacterioestático)

Afeta a integridade da membrana plasmática quando usado em alta concentração (bactericida).

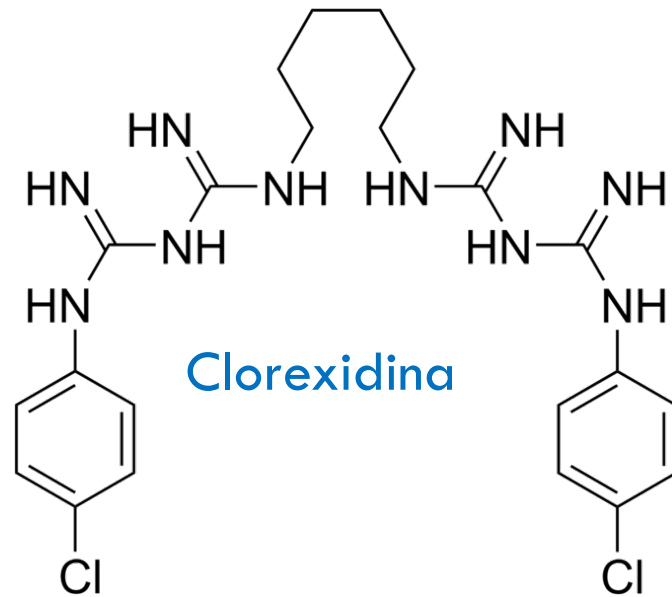
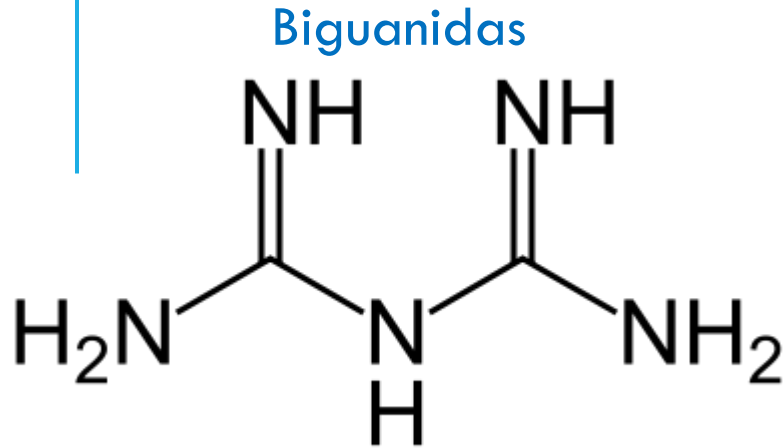
Uso: Ótimo para G⁺, mas age bem G⁻ e fungos

Encontrado em medicamentos, sabonetes, loções, desodorantes e cremes dentais.

P. aeruginosa é resistente

Yueh, M., Tukey, R. (2016) *Triclosan: a widespread environmental toxicant with many biological effects.*

5. BIGUANIDAS



Amplo Espectro. Mais efetivo G⁺



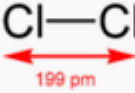
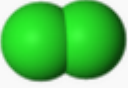
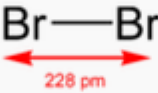
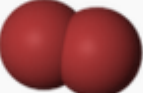
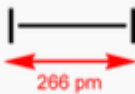

Clorexidina : Usado em mucosa e na pele

- Clorexidina + Detergente ou álcool: Usado preparação da pele (pre-operatório), lavagem das mãos

Bactericida: Age na Membrana Plasmática – Morte

Baixa toxicidade.

6. HALÓGENOS

Halógeno	Molécula	Estrutura	Modelo	$d(X-X)$ / pm (fase gaseosa)	$d(X-X)$ / 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 fluor

Agentes Oxidantes

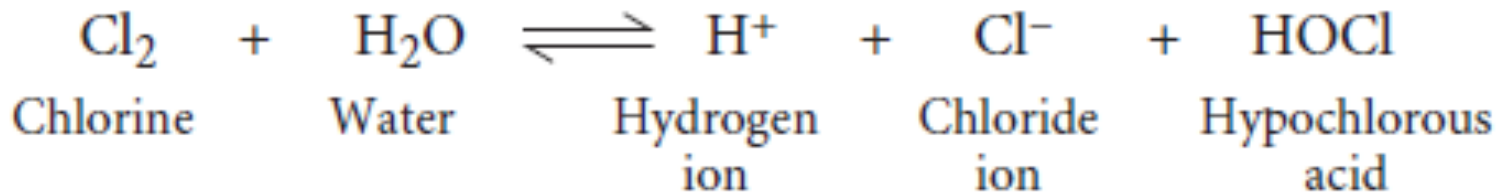
HALÓGENOS

Iodo, Antiséptico da pele

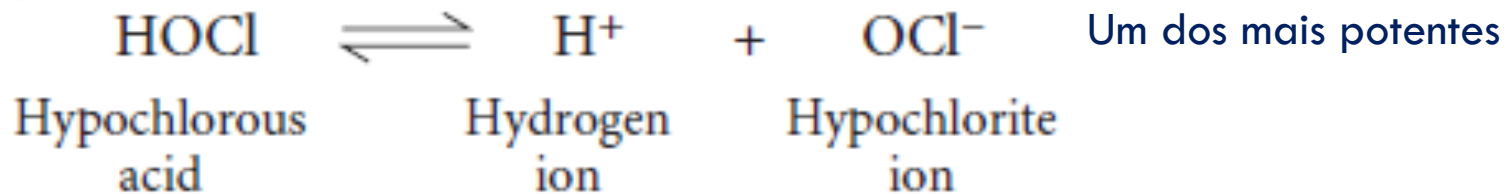
Candica - Desinfetante

Cloro – Seu efeito é na forma $\text{Cl}_{2(g)}$ - Mata endosporos e bactéria do anthrax

(1)



(2)



7. ALDEÍDOS

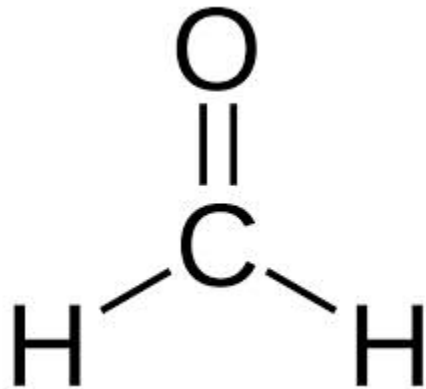
É um dos mais efetivos

Inativa Proteínas – Cross-linking

Formaldeído & Glutaraldeído

Formaldeído gás – ótimo desinfetante

Comum Formalin: 37% formaldeído

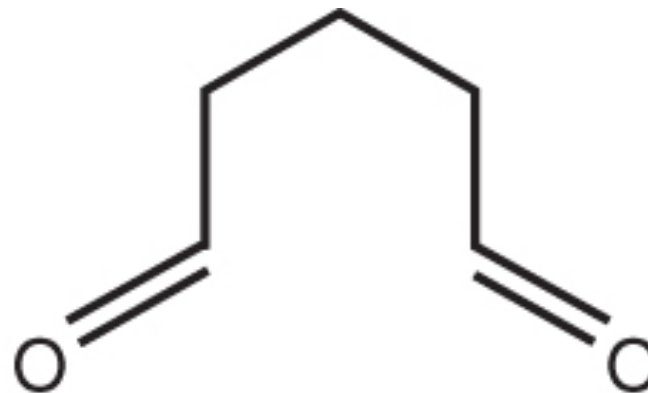


ALDEÍDOS

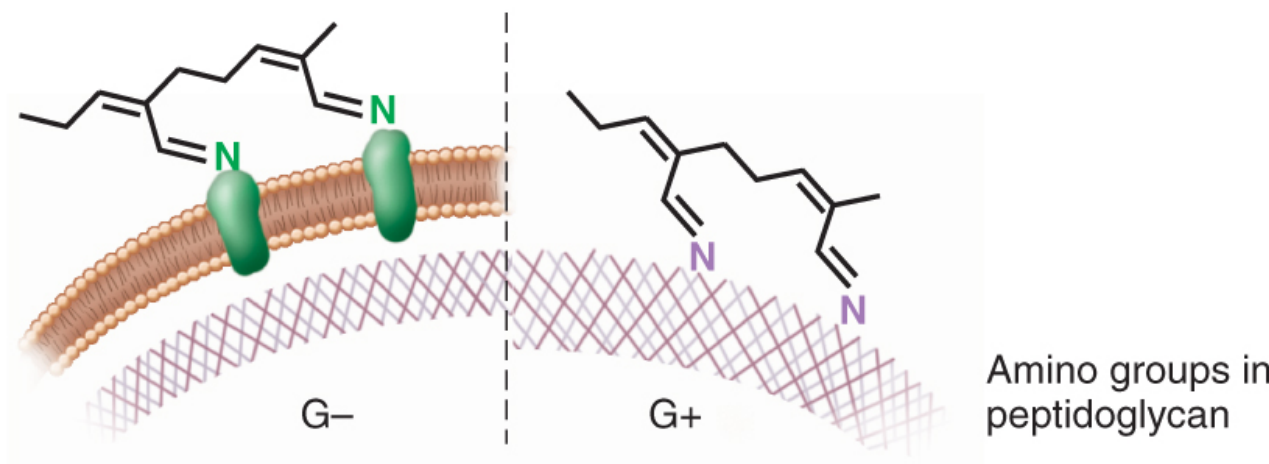
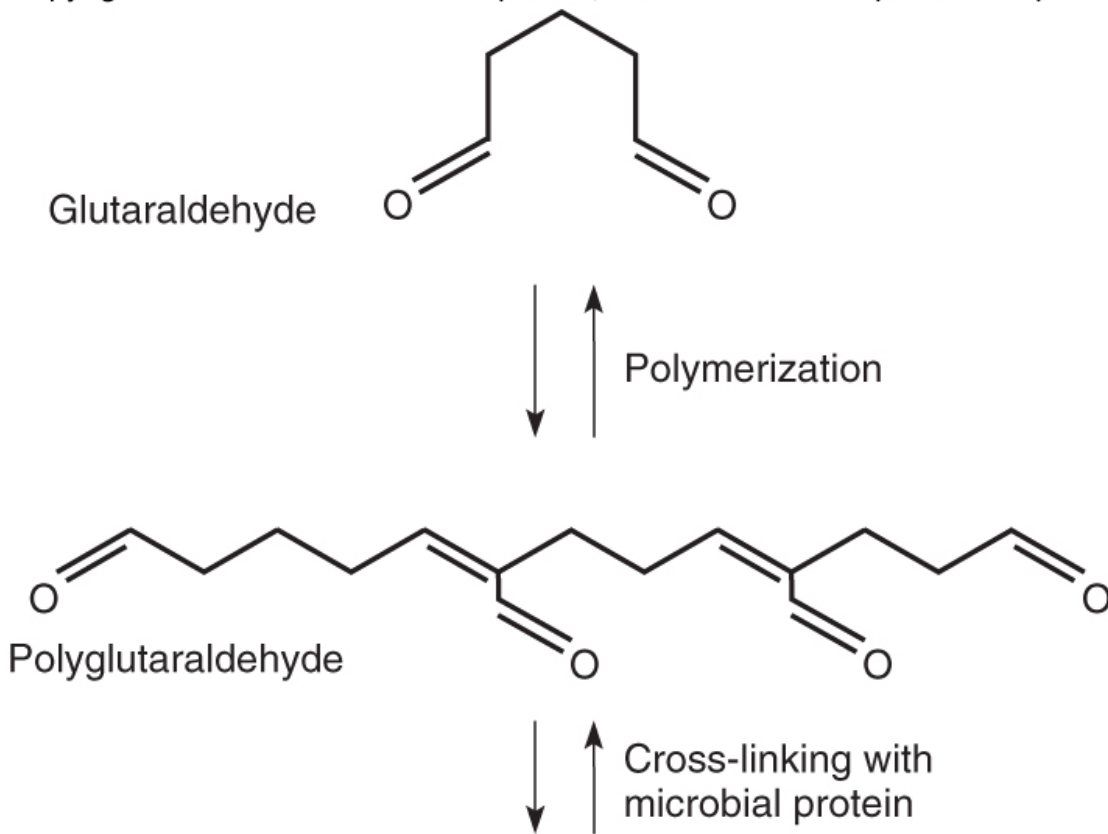
Glutaraldeído – Pode ser considerado **Agente Esterilizante**

- Mais efetivo e menos irritante
- Usado como desinfetante:
 - Instrumentos hospitalares
 - 2% bactericida, tuberculocida e virucida em 10 min, esporocida em 3-10h.

Glutaraldehyde



ÁÇÃO GLUTARALDEÍDO



8. METAIS PESADOS

Podem ser Biocidas ou Antisépticos

Hg (metiolate antigamente)

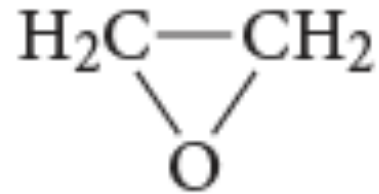
Cu

Ag

9. GASES QUIMIO-ESTERILIZANTES

Esterilizam em cameras

- Óxido de Etileno



- Ação Bactericida 4-18h:

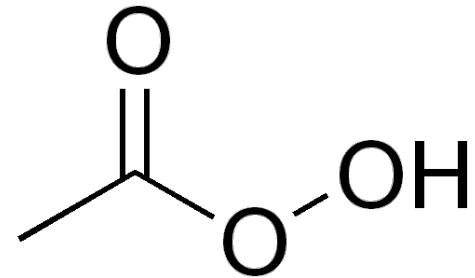
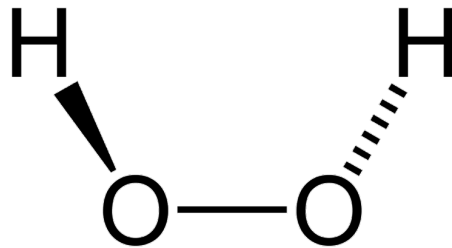
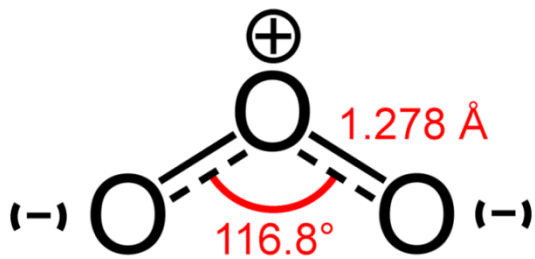
Desnaturação de Proteínas

- Os hidrogenios labéis (Cys, D, E, S, Y) são trocados por grupos alquilas (-CH₃) – metilação das proteínas

AGENTES OXIDANTES - PERÓXIDOS

Agentes Oxidantes:

- Desnaturação de Proteínas e Morte celular
 - O_3 - Desinfetante
 - H_2O_2 - Antiséptico
 - Ácido Peracético - Esterilizante



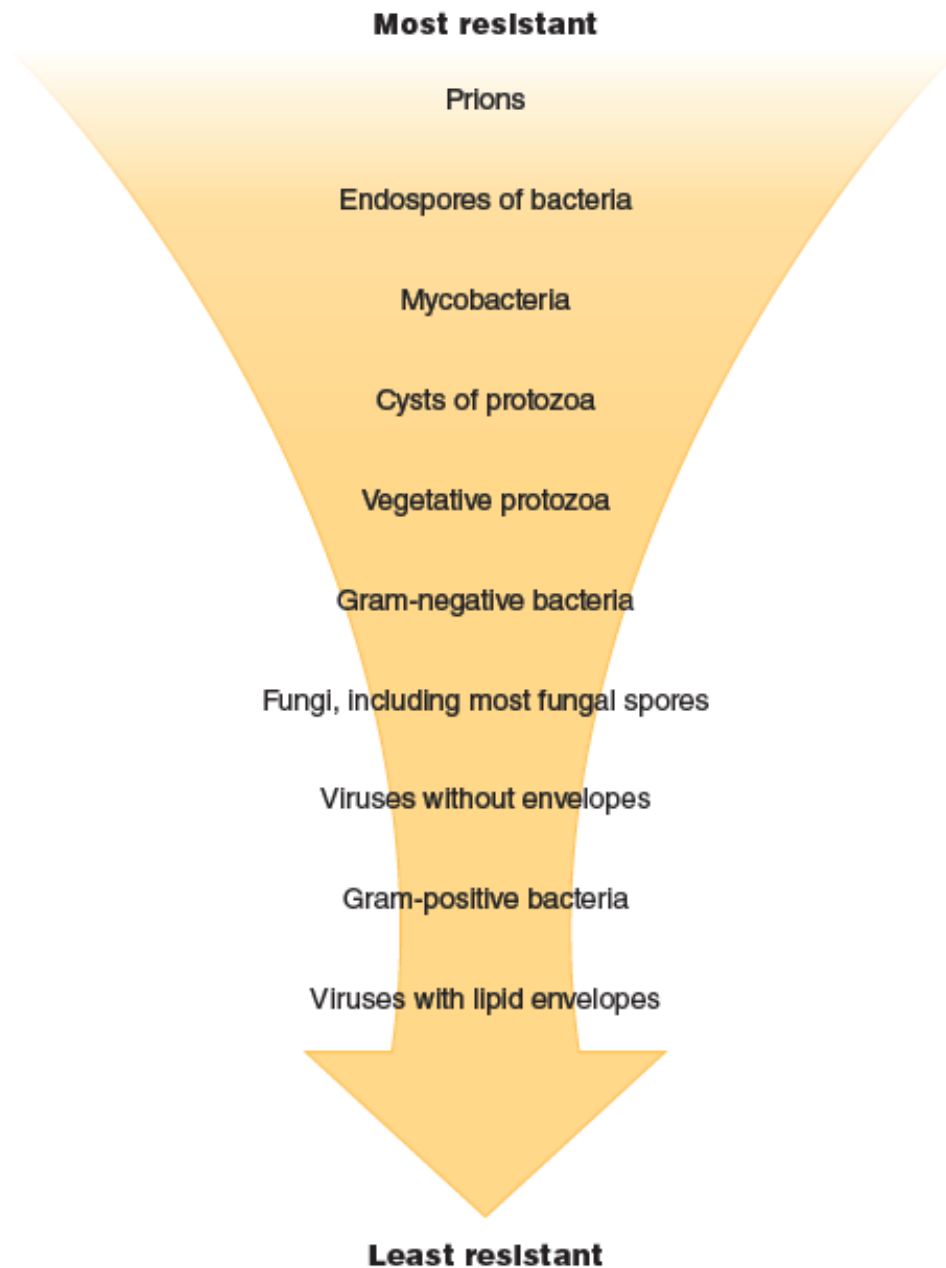


Figure 7.11 Decreasing order of resistance of microorganisms to chemical biocides.

The Effectiveness of Chemical Antimicrobials against Endospores and Mycobacteria

TABLE 7.7

Chemical Agent	Endospores	Mycobacteria
Mercury	No activity	No activity
Phenolics	Poor	Good
Bisphenols	No activity	No activity
Quats	No activity	No activity
Chlorines	Fair razoável	Fair
Iodine	Poor	Good
Alcohols	Poor	Good
Glutaraldehyde	Fair	Good
Chlorhexidine	No activity	Fair

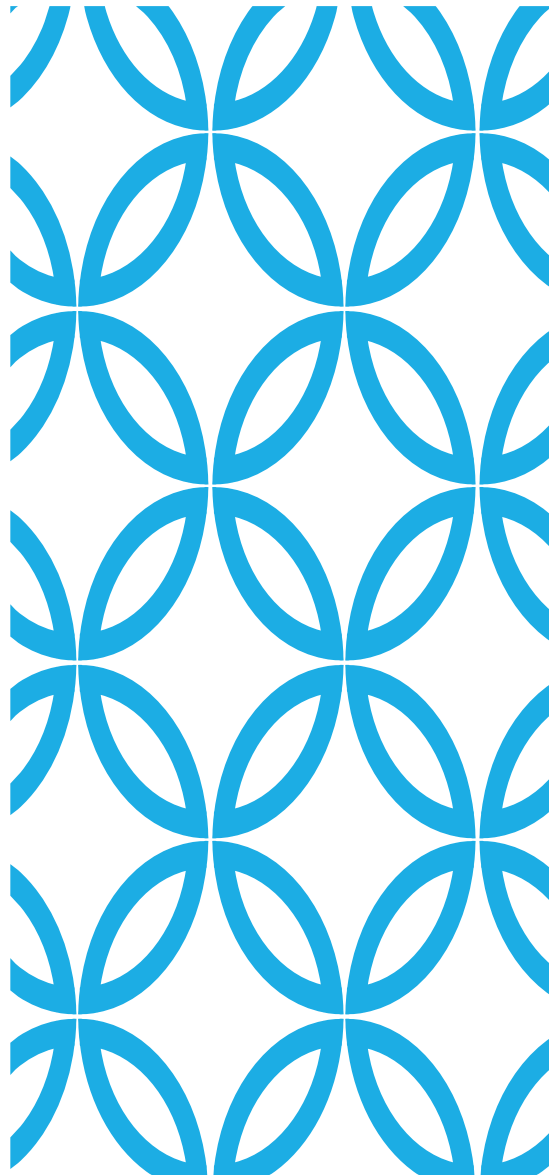
ANTIMICROBIANOS USADOS NA INDUSTRIA

Table 26.4 *Industrial uses of antimicrobial chemicals*

Industry	Chemicals	Use
Paper	Organic mercurials, phenols, ^a methylisothiazolinone	To prevent microbial growth during manufacture
Leather	Heavy metals, phenols ^a	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 ^a	To prevent microbial deterioration of fabrics, such as awnings and tents, that are exposed in the environment
Wood	Metal salts, phenols ^a	To prevent deterioration of wooden structures
Metal working	Cationic detergents	To prevent growth of bacteria in aqueous cutting emulsions
Petroleum	Mercurics, phenols, ^a cationic detergents, methylisothiazolinone	To prevent growth of bacteria during recovery and storage of petroleum and petroleum products
Air conditioning	Chlorine, phenols, ^a 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

Sterilants, disinfectants, and sanitizers^c

Alcohol (60–85% ethanol or isopropanol in water) ^a	Disinfectant for medical instruments and laboratory surfaces	Lipid solvent and protein denaturant
Cationic detergents (quaternary ammonium compounds, Lysol [®] and many related disinfectants)	Disinfectant and sanitizer for medical instruments, food and dairy equipment	Interact with phospholipids
Chlorine gas	Disinfectant for purification of water supplies	Oxidizing agent
Chlorine compounds (chloramines, sodium hypochlorite, sodium chlorite, chlorine dioxide)	Disinfectant and sanitizer for dairy and food industry equipment, and water supplies	Oxidizing agent
Copper sulfate	Algicide disinfectant in swimming pools and water supplies	Protein precipitant
<u>Ethylene oxide (gas)</u>	<u>Sterilant for temperature-sensitive materials such as plastics and lensed instruments</u>	Alkylating agent
<u>Formaldehyde</u>	<u>3–8% solution used as surface disinfectant, 37% (formalin) or vapor used as sterilant</u>	Alkylating agent
<u>Glutaraldehyde</u>	<u>2% solution used as high-level disinfectant or sterilant, commonly used fixative in electron microscopy</u>	Alkylating agent
<u>Hydrogen peroxide^a</u>	<u>Vapor used as sterilant</u>	Oxidizing agent
Iodine-containing iodophor compounds in solution ^a (Wescodyne [®])	Disinfectant for medical instruments and laboratory surfaces	Iodates tyrosine residues
Mercuric dichloride ^b	Disinfectant for laboratory surfaces	Combines with –SH groups
OPA (ortho-phthalaldehyde)	High-level disinfectant for medical instruments	Alkylating agent
Ozone	Disinfectant for drinking water	Strong oxidizing agent
<u>Peroxyacetic acid</u>	<u>Solution used as high-level disinfectant or sterilant</u>	Strong oxidizing agent
Phenolic compounds ^b	Disinfectant for laboratory surfaces	Protein denaturant
Pine oils (Pine-Sol [®]) (contains phenolics and other detergents)	General disinfectant for household surfaces	Protein denaturant



RESISTÊNCIA?

Tabela 1. Tempo de sobrevivência dos patógenos hospitalares em superfícies secas.

Microrganismo	Tempo de sobrevivência
<i>Clostridium difficile</i>	> 5 meses
<i>Acinetobacter</i> spp	3 dias a 11 meses
<i>Enterococcus</i> spp. - incluindo VRE	5 dias a > 46 meses
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 horas a 16 meses
<i>Klebsiella</i> spp.	2 horas a > 30 meses
<i>S. aureus</i> – incluindo MRSA	7 dias a >12 meses
Norovírus	8 horas a > 2 semanas

Fonte: Adaptado de Kramer et al., 2006.

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Front. Public Health, 28 August 2019 | <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00240>



Microbial Community Profiling in Intensive Care Units Expose Limitations in Current Sanitary Standards

 **Lucas Ferreira Ribeiro**¹,  **Erica M. Lopes**²,  **Luciano T. Kishi**³,  **Liliane Fraga Costa Ribeiro**⁴, 
Mayra Gonçalves Meneguetti⁵,  **Gilberto Gambero Gaspar**⁵,  **Rafael Silva-Rocha**^{2†} and  **María-Eugenia Guazzaroni**^{1*†}

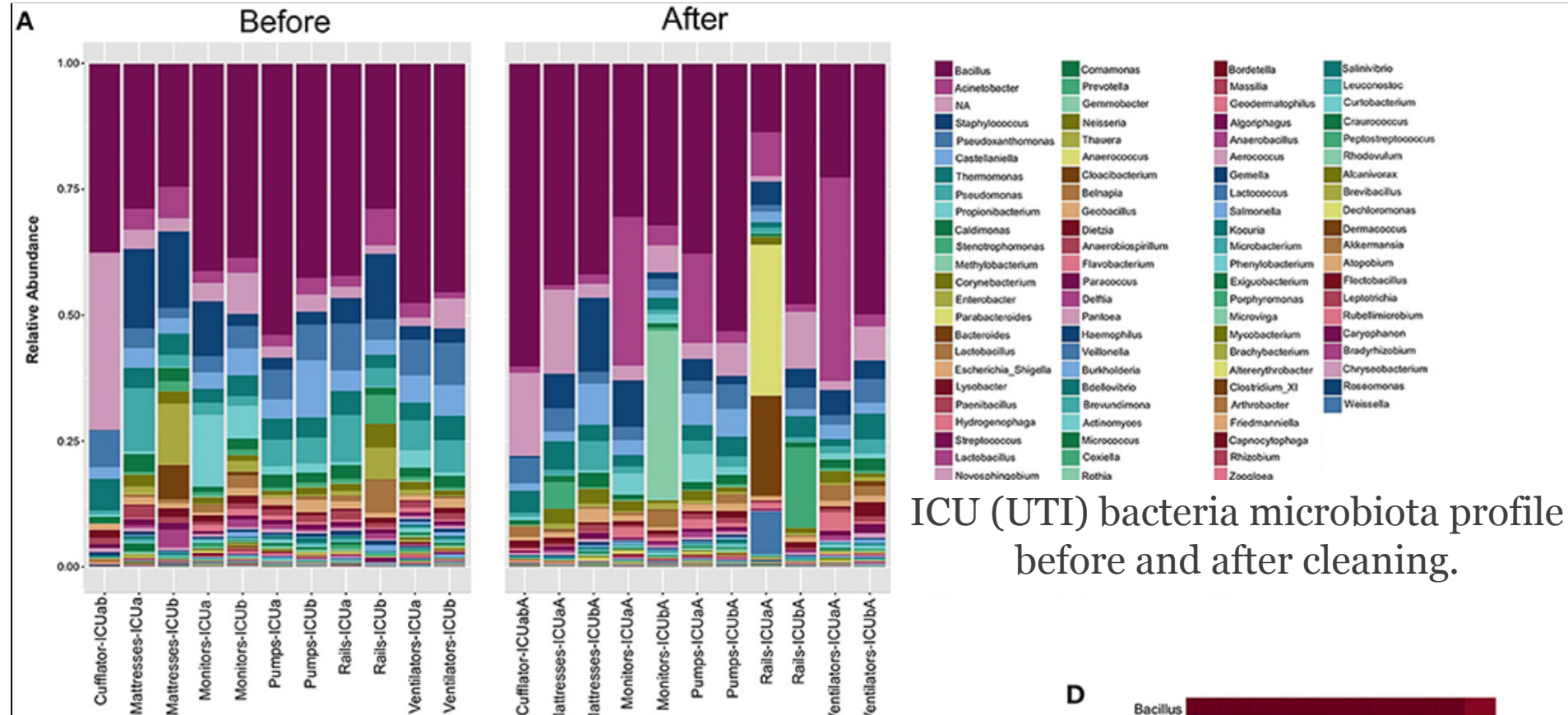
¹Department of Biology, FFCLRP -University of São Paulo, Ribeirao Preto, Brazil

²Department of Cellular and Molecular Biology, FMRP -University of São Paulo, Ribeirao Preto, Brazil

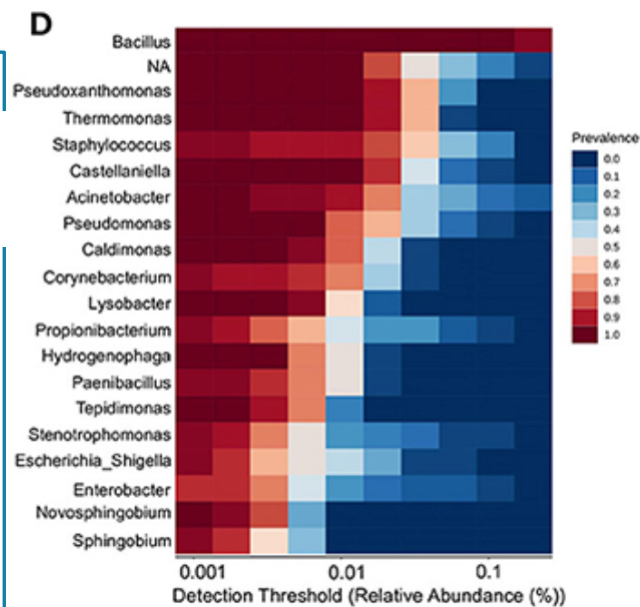
³National Laboratory of Scientific Computing, Petrópolis, Brazil

⁴Department of Biochemistry and Immunology, FMRP -University of São Paulo, Ribeirao Preto, Brazil

⁵Infection Control Service, The Medical School Clinics Hospital, University of São Paulo, Ribeirao Preto, Brazil



Prevalência de Microrganismos antes e depois de limpar UTIs



CONCLUSÕES

- NICU (UTI neonatal) presents higher biodiversity than in the ICU (UTIs);
- Cleaning showed a slight decrease in diversity. Several genera were quite stable to disinfection, suggesting being well-adapted to the ICU environment.
- In conclusion, There is an urgent need for the development of robust policies on microbial surveillance to help guide procedures, improving infection control.

Prevenir ocorrências de doenças nosocomiais.