

CONTROLE DO CRESCIMENTO MICROBIANO

Os seguintes termos são usados para descrever os processos físicos e os agentes químicos destinados ao controle dos micro-organismos:

DESINFETANTE é um agente que mata as formas vegetativas, mas não, necessariamente as formas esporuladas dos micro-organismos patogênicos.

Desinfecção é o processo de destruição dos agentes infecciosos, pelo uso de substância química, radiação ultra-violeta, água fervente ou vapor para tratar objetos inanimados.

ANTISSÉPTICO: semelhante ao desinfetante, previne o crescimento ou ação de micro-organismos, pela destruição dos mesmos ou pela inibição de seu crescimento ou atividade.

Usualmente está associado com substâncias aplicadas aos seres vivos, pessoas ou animais.

SANEANTE é um agente que reduz a população microbiana até níveis consideráveis, de acordo com as exigências de saúde pública.

GERMICIDA é o agente que mata os micro-organismos, são chamados de microbicida. Bactericida, viricida e fungicida indicam o tipo de micro-organismo destruído.

MICROBIOSTÁTICO apenas inibe o crescimento dos micro-organismos (fungistático ou bacteriostático)

ESTERILIZAÇÃO é o processo pelo qual os micro-organismos são mortos, inativados irreversivelmente ou retirados de um material ou suspensão, inclusive as formas esporuladas.

AGENTES FÍSICOS

Os métodos físicos mais frequentes são:

- Temperatura
- Radiações
- Filtração
- Pressão osmótica

Temperatura

O calor é o método mais eficiente para matar micro-organismos.

Pode ser calor: **seco ou úmido.**

Calor Seco:

- Age promovendo uma oxidação de componentes do protoplasma.
- Tem baixa capacidade de penetração.
- Menos eficiente que o calor úmido.
- As temperaturas necessárias para a esterilização são 160-180°C por uma ou duas horas.
- Emprega-se para vidraria, óleos ou pós.
- *A flambagem é a mais usual.*



Calor Úmido:

- Age promovendo a desnaturação de proteínas e dissolução dos lipídeos.
- É mais eficiente que o calor seco.
- A condição mais usada para esterilização é vapor de água aquecido à 120°C, sob pressão de 1 atmosfera durante 15-20 minutos (autoclave).
- A pasteurização consiste no aquecimento a 60°C por 30 minutos, seguido de resfriamento brusco (não é esterilização).
- A fervura não mata esporos de bactérias (não é esterilização).

AUTOCLAVE

Usada para esterilização de reatores pequenos (30 L), vidrarias, meios de cultura, etc.



- Pequenos objetos são esterilizados de 15 a 30 minutos. Reatores necessitam de mais tempo (40 minutos a 1 hora), já que o centro demora para atingir a temperatura adequada.

FERVURA

FERVURA

(100°C – ao nível do mar)

Mata as formas vegetativas de bactérias, quase todos os vírus, fungos e seus esporos em 10 minutos:



PASTEURIZAÇÃO

Tratamento Clássico: 63 °C por 30 min

Pasteurização de Alta Temperatura e Curto Tempo (HTST - *high - temperature short-time*):

72 °C por 15 s

Leite

Pasteurização - submetido a temperatura (72 °C) enquanto flui continuamente por uma serpentina. Conserva-se bem sob refrigeração

Esterilização – submetido a altas temperaturas (UHT – *ultra-high temperature*) para que possa ser armazenado sem refrigeração (a temperatura vai de 74 °C para 140 °C e depois retorna para a temperatura inicial)

De modo geral, os micro-organismos são mais resistentes ao frio do que ao calor.

Temperaturas de 0 a 7°C: a taxa metabólica da maioria dos micro-organismos é reduzida – **efeito microbiostático**

Com algumas exceções, a temperatura de geladeira (4°C) pode ser empregada para conservação de culturas.

O congelamento lento promove a formação de cristais de gelo, que perfuram a membrana e a parede celular.

O congelamento brusco a temperaturas inferiores a -30°C seguido de dessecamento à vácuo – liofilização – é usada na conservação de micro-organismos.

Radiações



Possuem atividade letal sobre os microrganismos.

Podem ser:

Ionizantes – comprimento de onda menor que 1 nm (raios gama, raio X e feixes de elétrons de alta energia)

Não Ionizantes (UV) – de 1 a 350 nm (luz ultravioleta (UV))

Ultravioleta

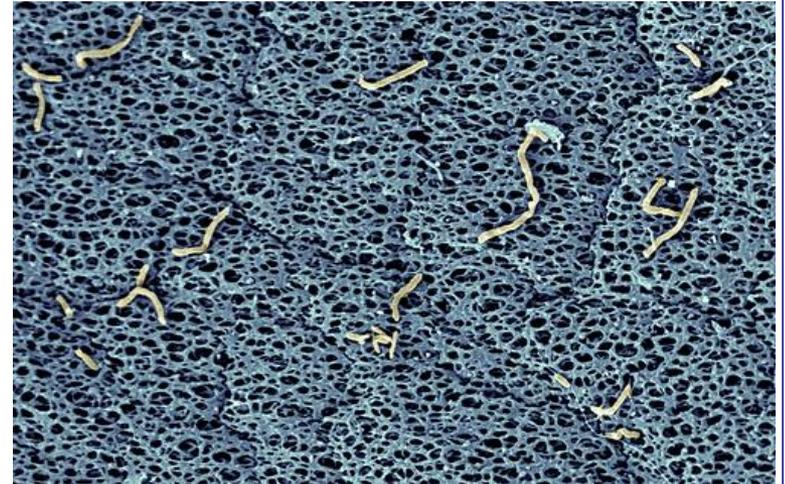
- A luz UV danifica o DNA das células expostas. Inibem a replicação correta do DNA durante a reprodução celular.
- Os comprimentos de onda mais eficazes estão entre 240-280 nm.
- São usadas na desinfecção de ambientes e materiais cirúrgicos.
- A radiação não é muito penetrante.
- Pode lesar os olhos humanos, causar queimaduras e câncer de pele.

Radiações Ionizantes

- Os raios gama, raios X, ou feixes de elétrons de alta energia.
- Ionizam a água, formando radicais reativos, que reagem com os componentes celulares.
- São muito mais penetrantes que as radiações UV.
- Usado para esterilizar produtos farmacêuticos e suprimentos médicos.

Filtração

- A passagem de soluções ou gases através de filtros de poros suficientemente pequenos é usada para reter bactérias e fungos (não vírus).



- É utilizada na esterilização de materiais sensíveis ao calor, como meios de cultura, enzimas, vacinas e soluções antibióticas.
- É comum a utilização na entrada de ar para os biorreatores.

- Baixo custo
- É confiável
- Mais utilizadas nas instalações industriais para esterilização do ar
- Podem ser de carvão, algodão, papel, lã de vidro e membrana poliméricas



Filtros de Membrana

- Apresentam poros de dimensões menores do que os microrganismos a serem retirados (0,2-0,45 μm).



Pressão osmótica

PRESSÃO OSMÓTICA

Uso de altas concentrações de sais e açúcares.



Criam um ambiente hipertônico que ocasiona a saída da água da célula microbiana

Pressão osmótica: esse princípio é utilizado na conservação dos alimentos

Em geral, fungos são muito mais capazes de crescer em materiais com baixa umidade que bactérias



AGENTES QUÍMICOS

- O uso de agentes químicos tem se tornado um método bastante conveniente e efetivo de esterilização e desinfecção.
- Usados na desinfecção de pisos e superfícies.
- Também são utilizados quando equipamentos de operações unitárias ou componentes de uma instalação industrial não admite esterilização pelo vapor de água saturado.
- Exemplos: filtros, bombas, centrífugas, válvulas.

Poucos obtêm a esterilidade, a maioria tem ação desinfetante.

Nenhum desinfetante isolado é apropriado para todas as circunstâncias.

A ação depende de fatores como: temperatura, pH, presença de sais, presença de proteínas e o tempo de contato.

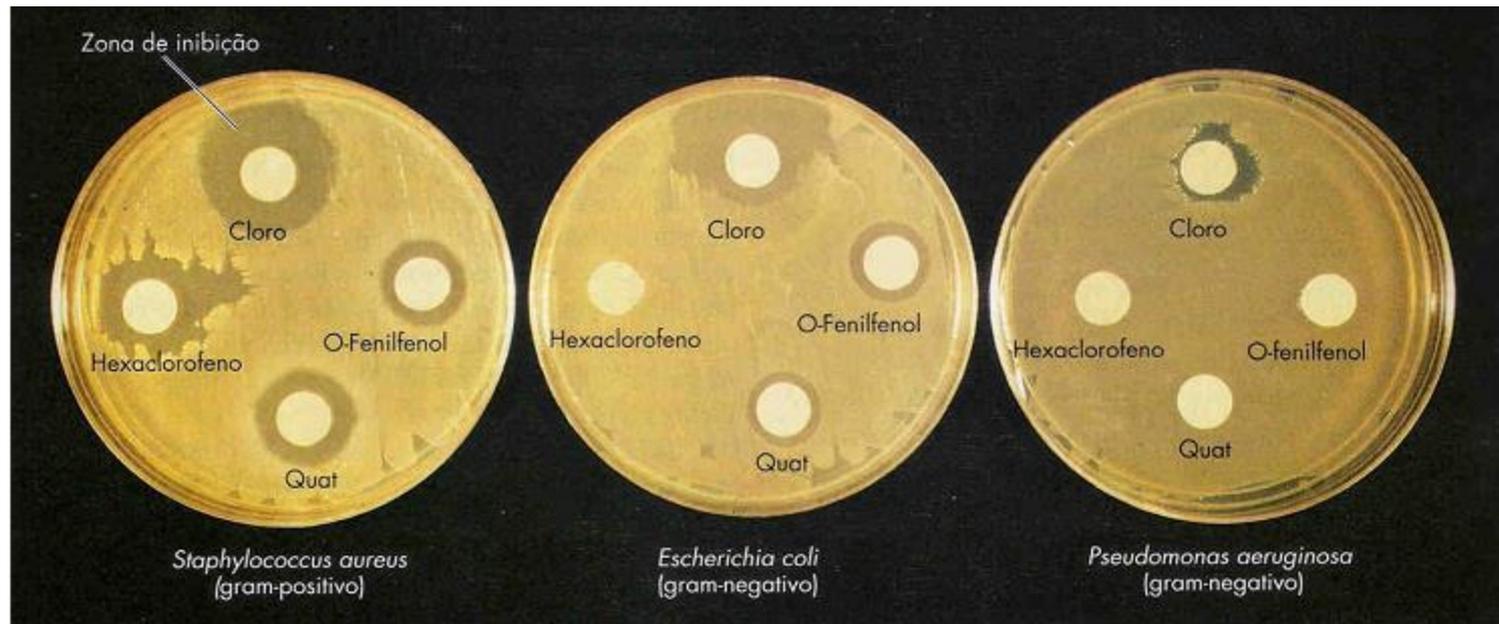
Ordem de resistência à exposição aos agentes químicos.

Tipo de Microrganismo	Nível de atividade requerida
Bactéria esporulante	Alto
Micobactéria e Vírus pequenos ou não lipídicos	Alto ou intermediário
Fungos	Intermediário a baixo
Bactéria vegetativa Vírus médios ou lipídicos	Baixo

Dependendo do nível de atividade necessária é que são escolhidos os agentes químicos.

Avaliação de um Desinfetante

- Método de Disco-difusão



Os agentes químicos são apresentados em grupos que tenham em comum, ou as funções químicas (álcoois, aldeídos), ou elementos químicos (halogênios, metais pesados etc), ou mecanismo de ação (agentes oxidantes, agentes de superfície etc).

ÁLCOOL



- Aplicação: desinfetante de nível intermediário.
- Ação: ruptura da membrana celular e desnaturação das proteínas.
- Apresentação mais frequente: álcool etílico e álcool isopropílico entre 60 e 90%.
- O etanol puro é menos efetivo que as soluções aquosas (etanol + água), pois a desnaturação requer água.

- Compatibilidade com materiais: mais indicado para superfícies externas dos materiais e superfícies de vidro.
- Características da ação: como evapora rapidamente sua ação é limitada, havendo necessidade de submersão de objetos para uma ação mais ampla.

ALDEÍDOS: FORMALDEÍDO (FORMOL) (4 a 8%)

- Aplicação: desinfetante de alto nível, mas carcinogênico.
- Espectro de ação: bactericida, fungicida, viricida.
- Usado na desinfecção de equipamentos.
- Pode ser encontrado na forma sólida (pastilhas formalina) ou como solução aquosa 37-40% (diluído em álcool ou água). A solução deve ser usada por 30 minutos, na concentração de 8% em solução alcoólica e 10% em solução aquosa.

ALDEÍDOS: GLUTARALDEÍDO

- Aplicação e indicação: desinfetante de alto nível usado na esterilização de equipamentos dependendo do tempo de exposição.
- Ação germicida: alteração do RNA, DNA e síntese protéica.
- Tempo: é utilizado em solução a 2% com pH alcalino (7,5-8,5) por 30 minutos.

FENOL E COMPOSTOS FENÓLICOS

Fenol – raramente usado devido à possibilidade de irritação e odor desagradável.

O cresol, O-fenilfenol, é o composto fenólico mais utilizado como desinfetante de superfícies.

O bifenol, triclosano, é usado em sabonetes antibacterianos.

FENÓLICOS (5%)

- Aplicação: desinfetante de nível baixo a intermediário.
- Ação: destruição do protoplasma com ruptura da parede celular com precipitação protéica.
- Espectro de ação: bactericida, viricida, fungicida.
- Usado na desinfecção de áreas de laboratório e produção. Sua concentração para uso é de 0,4-5% sendo que o tempo de exposição deve ser menor ou igual a 10 minutos.

HALOGÊNIOS

O iodo e o cloro são agentes antimicrobianos eficazes.

O iodo está disponível como tintura de iodo, usado principalmente na desinfecção da pele e no tratamento das feridas.



O cloro, como gás ou em combinação com outras substâncias químicas, é amplamente usado.

- Ação antimicrobiana do iodo: se combina ao aminoácido tirosina, inibindo sua função protéica; e oxida grupos sulfidrila (-SH), importantes para manutenção da estrutura de proteínas.
- Ação antimicrobiana do cloro: quando o cloro é adicionado à água, forma-se ácido hipocloroso, o qual é forte agente oxidante, impedindo o funcionamento de boa parte do sistema enzimático celular.

Hipoclorito de Sódio

- Aplicação: quanto maior a concentração e/ou o tempo, maior o espectro de ação, podendo ser utilizado como desinfetante de baixo a alto nível.
- Espectro de ação: Atua a concentrações tão baixas como 25 ppm para microrganismos mais sensíveis. Mais usualmente utilizado em concentração de 1000 ppm.

- Características: é o desinfetante mais amplamente utilizado. Apresenta ação rápida e baixo custo.
- É considerado como prejudicial ao ambiente.
- Compatibilidade com materiais: é bastante corrosivo, principalmente de metais e tecidos de algodão e sintéticos.

AGENTE OXIDANTE: PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (Água oxigenada) (6 a 10%)

- Aplicação: desinfetante de alto nível, principalmente para materiais termo sensíveis.
- Ação: agente oxidante. Desnaturação protéica, ruptura da permeabilidade da membrana celular.
- Tempo: a inativação de micro-organismos é dependente de tempo, temperatura e concentração.
- Quando a concentração estiver abaixo de 6% deve ser desprezada.
- Compatibilidade com materiais: corrói zinco cobre e latão.

COMPOSTOS QUATERNÁRIOS DE AMÔNIA

- Aplicação: desinfetante de baixo nível. Muito utilizado como desinfetante de superfícies, limpeza geral.
- Ação: desnaturação das proteínas celulares essenciais e ruptura da membrana celular.
- Inativados por tensoativos, resíduos aniônicos e proteínas. Algumas formulações são inativadas por água dura.
- Baixo nível de toxicidade direta, mas poluente ambiental.



CLORETO DE BENZALCÔNICO



CLORETO DE CETILPIRIDÍNIO

BIGUANIDAS

Clorexidina:

- forte afinidade de ligação com a pele ou membranas mucosas;
- apresenta baixa toxicidade;
- ação é efetiva no controle da maioria das bactérias vegetativas e fungos, mas não é esporicida;
- ação antimicrobiana: lesão à membrana citoplasmática.



METAIS PESADOS E SEUS COMPOSTOS

Vários metais pesados podem ser germicidas ou anti-sépticos:

- Prata
- Mercúrio
- Cobre
- Zinco

AÇÃO OLIGODINÂMICA – QUANTIDADES MUITO PEQUENAS DE METAIS EXERCEM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.

Os íons do metal se combinam com os grupos sulfidril da das proteínas e ocorre desnaturação



EXEMPLOS DO USO DA PRATA COMO AGENTE ANTIMICROBIANO



MERCÚRIO:

Timerosal (Merthiolate)
($C_9H_9HgNaO_2S$)
contém 49% de mercúrio.



Hoje a nova fórmula do
Merthiolate apresenta
Digluconato de clorexidina

COBRE:

Sulfato de cobre – usado para inibir algas verdes (algicida)



Hidroxiquinolina de cobre
– utilizados em tintas para prevenir mofo



ZINCO:

Telhas galvanizadas: revestidas com zinco para evitar crescimento microbrológico;

Soluções de bochecho – cloreto de zinco

Antifúngico em tintas – óxido de zinco (componente de pigmentos)



AGENTES DE SUPERFÍCIE

tensoativos ou surfactantes

Incluem: SABÕES e
DETERGENTES

Pouco valor anti-séptico.



Atuam por remoção mecânica dos micro-organismos (degerminantes)

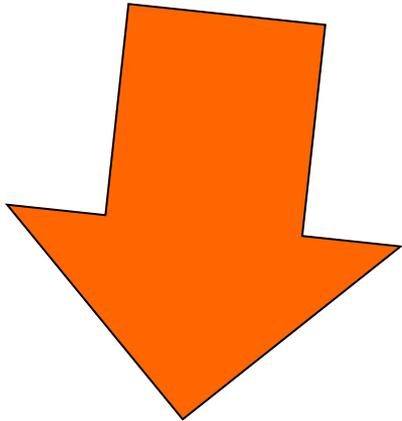
Resumo: tipos de desinfetantes

- Álcoois
- Aldeídos
- Fenol e compostos fenólicos
- Halogênios
- Agentes oxidantes
- Compostos quaternários de amônia
- Biguanidas
- Metais pesados e seus compostos
- Agentes de superfície

AGENTES QUIMIOTERÁPICOS

- Antimicrobianos úteis para a ingestão ou injeção no tratamento de doenças
- Principal propriedade de um agente quimioterápico para que tenha sucesso:
 - **TOXICIDADE SELETIVA**
 - Capacidade de inibir bactérias ou outros agentes patogênicos sem provocar efeitos adversos no hospedeiro

Duas categorias:

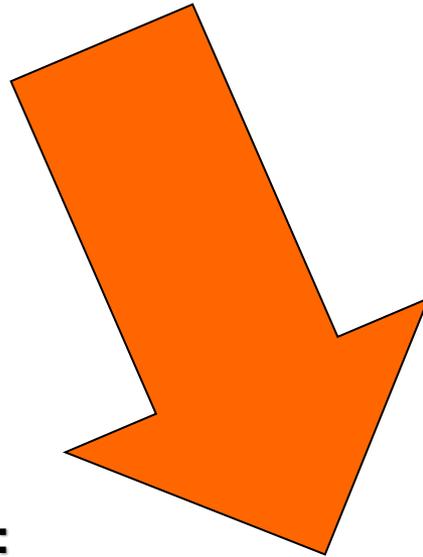


AGENTES SINTÉTICOS:

Análogos de fatores de crescimento

Ex: SULFAS (Sulfanilamida)

Análogo do ácido *p*-aminobenzóico, inibe a síntese de ácido fólico, precursor de ácidos nucleicos.



ANTIBIÓTICOS

Compostos químicos produzidos por micro-organismos que inibem ou matam outros micro-organismos