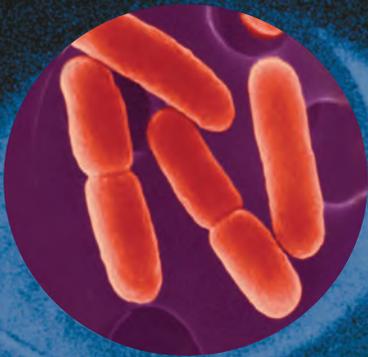


7

Controle do Crescimento Microbiano

O controle científico do crescimento microbiano começou somente há cerca de 100 anos. Lembre-se do Capítulo 1 que o trabalho de Pasteur sobre os micro-organismos levou os cientistas a acreditarem que os micróbios seriam uma possível causa de doenças. Na metade do século XIX, o médico húngaro Ignaz Semmelweis e o médico inglês Joseph Lister utilizaram essa ideia em algumas das primeiras práticas de controle microbiano para procedimentos médicos. Essas práticas incluíam a lavagem das mãos com hipoclorito de cálcio, que matava os micro-organismos, e a utilização de técnicas de **cirurgia assépticas** para impedir a contaminação microbiana de feridas cirúrgicas. Até aquele momento, as infecções adquiridas em hospital, ou infecções nosocomiais, eram a causa de morte em pelo menos 10% dos casos cirúrgicos, e as mortes de parturientes chegavam a 25%. A ignorância a respeito dos micro-organismos era tanta que, durante a Guerra Civil Americana, um cirurgião poderia limpar seu bisturi na sola de sua bota, entre as incisões.

No último século, os cientistas continuaram a desenvolver uma série de métodos físicos e agentes químicos para controlar o crescimento microbiano. No Capítulo 20, discutiremos os métodos para o controle dos micro-organismos após a infecção ter ocorrido, principalmente a antibioticoterapia.



SOB O MICROSCÓPIO

Bactérias presas em uma membrana filtrante (note os dois poros presentes na figura).

P&R

A filtração pode ser usada para remover micro-organismos de água e de soluções. Em qual situação este é o único método prático para a eliminação de micro-organismos indesejáveis?

Procure pela resposta neste capítulo.

A terminologia do controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

- 7-1** Definir os seguintes termos-chave relacionados ao controle microbiano: esterilização, desinfecção, antisepsia, degerminação, sanitização, biocida, germicida, bacteriostase e assepsia.

Um termo frequentemente usado, e mal empregado, ao discutir o controle do crescimento microbiano é a **esterilização**. **Esterilização** é a remoção ou destruição de *todas as formas* de vida microbiana. Os príons, no entanto, são altamente resistentes a todos os modos de esterilização (veja a página 203), o que na prática requer a modificação deste termo (mesmo que ainda não estabelecido). Portanto, a definição de **esterilização** em geral considera a ausência de príons. O aquecimento é o método mais comum usado para matar micro-organismos, incluindo as formas mais resistentes, como os endosporos. Agentes utilizados em processos de esterilização são denominados **esterilizantes**. Líquidos ou gases podem ser esterilizados por filtração.

As pessoas pensam que os alimentos enlatados à venda em supermercados são completamente estéreis. Na realidade, o tratamento com calor requerido para assegurar a esterilidade absoluta iria degradar o alimento desnecessariamente. Em vez disso, os alimentos são submetidos somente ao calor suficiente para destruir os endosporos de *Clostridium botulinum*, que pode produzir uma toxina mortal. Esse tratamento limitado de calor é denominado **esterilização comercial**. Os endosporos de uma série de bactérias termofílicas, capazes de causar deterioração dos alimentos, mas não doença em humanos, são consideravelmente mais resistentes ao calor que *C. botulinum*. Se estiverem presentes, irão sobreviver, mas sua sobrevivência normalmente não tem consequência prática; eles não crescerão nas temperaturas normais de armazenamento do alimento. Se os enlatados de um supermercado fossem incubados em temperaturas na faixa de crescimento dessas termófilas (acima de 45°C), uma grande quantidade de alimentos iria se deteriorar.

A esterilização completa muitas vezes não é necessária em outras situações. Por exemplo, as defesas normais do corpo podem lidar com alguns micro-organismos que penetram em uma ferida cirúrgica. Um copo ou um garfo em um restaurante necessita apenas de um controle microbiano suficiente para prevenir a transmissão de micro-organismos possivelmente patogênicos de uma pessoa para outra.

O controle voltado para a destruição de micro-organismos nocivos é denominado **desinfecção**. Este termo normalmente refere-se à destruição de patógenos na forma vegetativa (não formadores de endosporos), o que não é o mesmo que esterilidade completa. Processos de desinfecção podem ser realizados com o uso de substâncias químicas, radiação ultravioleta, água fervente ou vapor. Na prática, o termo é mais comumente aplicado ao uso de um produto químico (um **desinfetante**) para tratar uma superfície ou substância inerte. Quando esse tratamento é dirigido a tecidos vivos, é denominado **antisepsia**, e o produto químico é então denominado **antisséptico**. Assim, na prática, uma mesma substância química pode ser denominada um desinfetante para um determinado uso e um antisséptico para outro. É claro que muitos produtos apropriados para lavar uma mesa, por exemplo, seriam muito agressivos para serem usados sobre tecidos vivos.

Existem variações da desinfecção e da antisepsia. Por exemplo, quando alguém precisa receber uma injeção, a pele é limpa com álcool – o processo de **degerminação**, que resulta principalmente na remoção mecânica, em vez da morte, da maioria dos micro-organismos em uma área limitada. Os copos, as louças e os talheres dos restaurantes estão sujeitos à **sanitização**, que tem a finalidade de reduzir as contagens microbianas a níveis seguros de saúde pública e minimizar as chances de transmissão de doença de um usuário para outro. Isso normalmente é obtido por lavagem em altas temperaturas ou, no caso das louças em um bar, lavagem em uma pia seguida por imersão em um desinfetante químico.

A **Tabela 7.1** resume a terminologia relacionada ao controle do crescimento microbiano.

Tabela 7.1 Terminologia relacionada ao controle do crescimento microbiano		
	Definição	Comentários
Esterilização	Destruição ou remoção de todas as formas de vida microbiana, incluindo os endosporos, possivelmente com exceção dos príons.	Normalmente realizada com vapor sob pressão ou um gás esterilizante, como o óxido de etileno.
Esterilização comercial	Tratamento de calor suficiente para matar os endosporos de <i>Clostridium botulinum</i> em alimentos enlatados.	Os endosporos mais resistentes de bactérias termófilas podem sobreviver, mas não irão germinar e crescer sob condições normais de armazenamento.
Desinfecção	Destruição de patógenos na forma vegetativa.	Pode fazer uso de métodos físicos ou químicos.
Antisepsia	Destruição de patógenos na forma vegetativa em tecidos vivos.	O tratamento é quase sempre por antimicrobianos químicos.
Degerminação	Remoção de micro-organismos de uma área limitada, como a pele ao redor do local da aplicação de uma injeção.	Basicamente uma remoção mecânica feita com algodão embebido em álcool.
Sanitização	Tratamento destinado a reduzir as contagens microbianas nos utensílios alimentares a níveis seguros de saúde pública.	Pode ser feita por meio de lavagem em altas temperaturas ou imersão em um desinfetante químico.

Os nomes dos tratamentos que causam a morte direta dos micro-organismos possuem o sufixo *-cida*, significando morte. Um **biocida** ou **germicida** mata os micro-organismos (geralmente com algumas exceções, como os endosporos); um *fungicida* mata os fungos; um *viricida* inativa os vírus; e assim por diante. Outros tratamentos somente inibem o crescimento e a multiplicação de bactérias; seus nomes têm o sufixo *-stático* ou *-stase*, significando parar ou diminuir, como na **bacteriostase**. Uma vez que um agente bacteriostático é removido, o crescimento é retomado.

Sepse, do termo grego para estragado ou podre, indica contaminação bacteriana, como nas fossas sépticas para tratamento de esgoto. (O termo também é usado para descrever uma condição de doença; veja o Capítulo 23, página 639.) *Asséptico* significa que um objeto ou área está livre de patógenos. Lembre-se do Capítulo 1 que **asepsia** é a ausência de contaminação significativa. Técnicas assépticas são importantes em cirurgia para minimizar a contaminação dos instrumentos, da equipe cirúrgica e do paciente.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ A definição comum de *esterilização* é a remoção ou destruição de todas as formas de vida microbiana; quais seriam as exceções práticas para esta simples definição? **7-1**

A taxa de morte microbiana

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-2 Descrever os padrões de morte microbiana ocasionada pelos tratamentos com agentes de controle microbiano.

Quando as populações bacterianas são aquecidas ou tratadas com substâncias químicas antimicrobianas, elas normalmente morrem em uma taxa constante. Por exemplo, suponha que uma população de um milhão de micro-organismos foi tratada por um minuto e 90% da população morreram. Restam agora 100 mil micro-organismos. Se a população é tratada por mais um minuto, 90% *daqueles* micro-organismos morrem, e restam 10 mil sobreviventes. Em outras palavras, para cada minuto que o tratamento é aplicado, 90% da população restante morrem (**Tabela 7.2**).

Tabela 7.2 Taxa de morte microbiana: exemplo		
Tempo (min)	Mortes por minuto	Número de sobreviventes
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

Se a curva de mortalidade é representada logaritmicamente, observa-se que a taxa de morte é constante, como demonstrado pela linha reta na **Figura 7.1a**.

Vários fatores influenciam a efetividade dos tratamentos antimicrobianos:

- **O número de micro-organismos.** Quanto mais micro-organismos existem no início, mais tempo é necessário para eliminar a população inteira (**Figura 7.1b**).
- **Influências ambientais.** A presença de matéria orgânica frequentemente inibe a ação dos antimicrobianos químicos. Em hospitais, a presença de matéria orgânica como sangue, vômito ou fezes influencia a seleção de desinfetantes. Micro-organismos em biofilmes sobre superfícies (veja a página 162) são mais difíceis de serem atingidos com eficiência pelos biocidas. Uma vez que sua atividade é condicionada a reações químicas dependentes de temperatura, os desinfetantes agem melhor em condições climáticas mais quentes.
A natureza do meio de suspensão também é um fator importante no tratamento com calor. Gorduras e proteínas são especialmente protetoras, e um meio rico nessas substâncias protege os micro-organismos que, dessa forma, terão uma taxa de sobrevivência maior. O calor também é muito mais eficiente sob condições ácidas.
- **Tempo de exposição.** Os antimicrobianos químicos frequentemente requerem exposição prolongada para que os micro-organismos ou endosporos mais resistentes sejam afetados. Veja a discussão sobre tratamentos equivalentes na página 191.
- **Características microbianas.** A seção que conclui este capítulo discute como as características microbianas interferem na escolha dos métodos de controle químicos e físicos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Como é possível que uma solução contendo um milhão de bactérias não demore mais tempo para ser esterilizada que uma solução contendo meio milhão de bactérias? **7-2**

Ações dos agentes de controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

7-3 Descrever os efeitos dos agentes de controle microbiano sobre as estruturas celulares.

Nesta seção, examinaremos os modos como vários agentes matam ou inibem os micro-organismos.

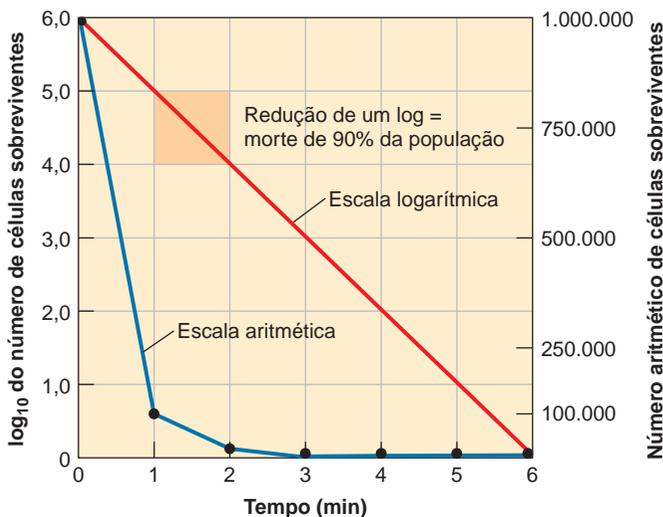
Alteração na permeabilidade da membrana

A membrana plasmática de um micro-organismo (veja a Figura 4.14, página 90), localizada no interior da parede celular, é o alvo de muitos agentes de controle microbiano. Essa membrana regula ativamente a passagem de nutrientes para o interior da célula e a eliminação celular de detritos. Danos aos lipídeos ou proteínas da membrana plasmática por agentes antimicrobianos causam o extravasamento do conteúdo celular no meio circundante e interferem no crescimento da célula.

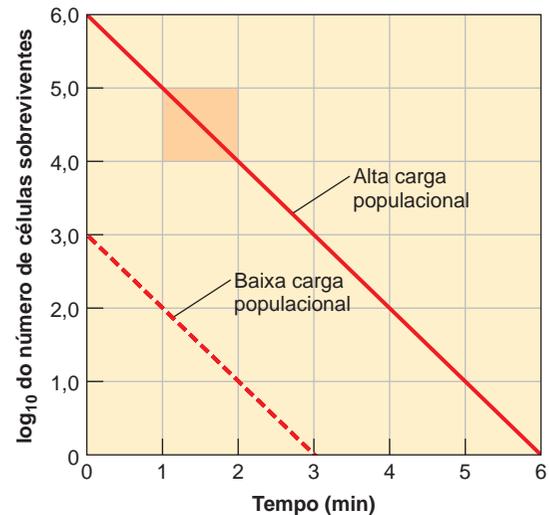
Figura 7.1

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?

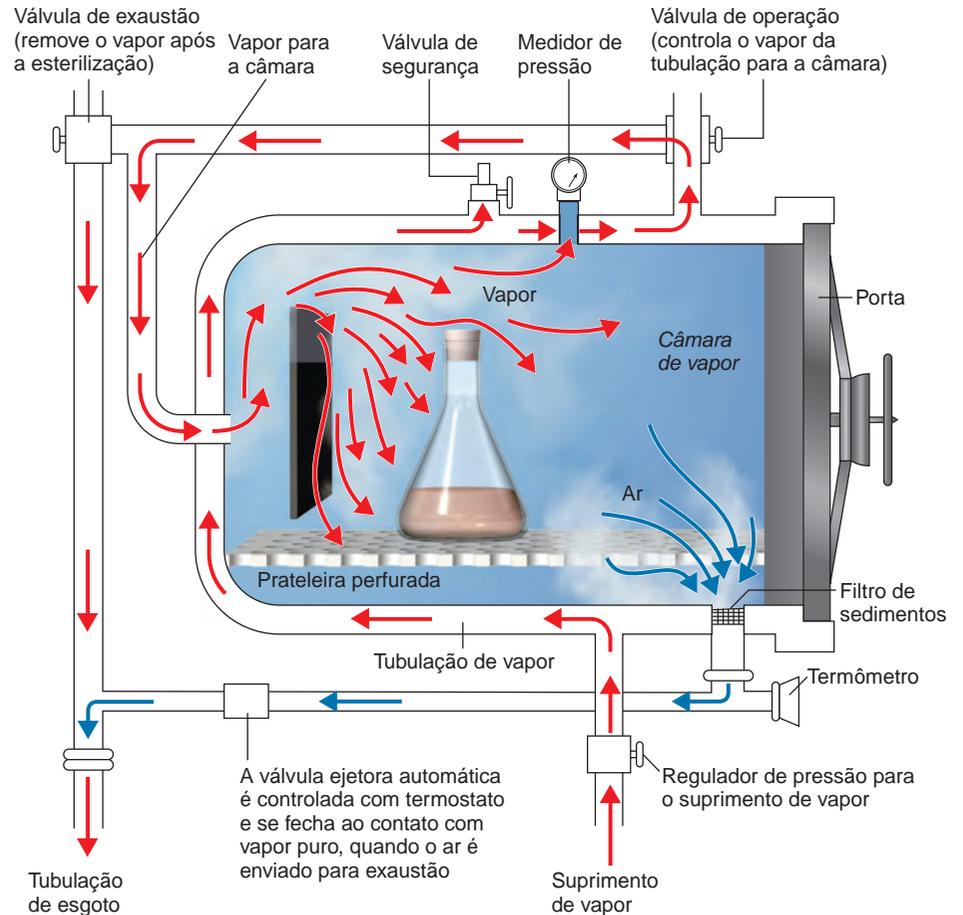


Tabela 7.3

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 ocios 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°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.

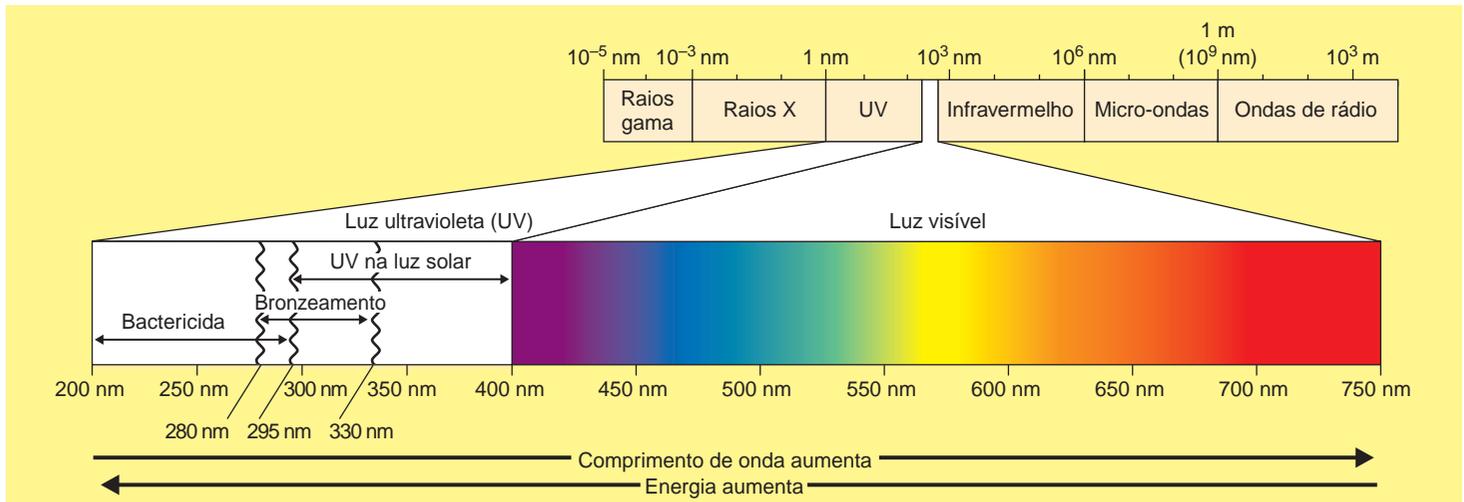


Figura 7.5 O espectro de energia radiante. A luz visível e outras formas de energia radiante se irradiam pelo espaço como ondas de vários comprimentos. A radiação ionizante, como os raios gama e X, possui um comprimento de onda mais curto que 1 nm. A radiação não ionizante, como a luz ultravioleta (UV),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

Método	Mecanismo de ação	Comentário	Uso preferencial
Calor			
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.
Filtração	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.
Frio			
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.
Alta pressão	Alteração da estrutura molecular de proteínas e carboidratos.	Conservação de cores, sabores e valores nutricionais.	Sucos de fruta.
Dessecação	Interrupção do metabolismo.	Envolve a remoção de água dos micro-organismos; principalmente bacteriostático.	Conservação dos alimentos.
Pressão osmótica	Plasmólise.	Resulta na perda de água das células microbianas.	Conservação dos alimentos.
Radiação			
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).

Métodos químicos de controle microbiano

OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 7-7** Listar os fatores relacionados à desinfecção efetiva.
- 7-8** Interpretar os resultados dos testes de uso-diluição e do método de disco-difusão.
- 7-9** Identificar os métodos de ação e usos preferenciais dos desinfetantes químicos.
- 7-10** Diferenciar os halogênios usados como antissépticos dos halogênios usados como desinfetantes.
- 7-11** Identificar os usos apropriados para os agentes com atividade de superfície.
- 7-12** Listar as vantagens do glutaraldeído em relação a outros desinfetantes químicos.
- 7-13** Identificar esterilizantes químicos.

Os agentes químicos são usados para controlar o crescimento de micro-organismos em tecidos vivos e objetos inanimados. Infelizmente, poucos agentes químicos proporcionam a esterilidade; a maioria deles meramente reduz as populações microbianas em níveis seguros ou removem as formas vegetativas de patógenos em objetos. Um problema comum na desinfecção é a seleção de um agente. Nenhum desinfetante isolado é apropriado para todas as circunstâncias.

Princípios da desinfecção efetiva

Ao ler o rótulo, podemos aprender muito sobre as propriedades de um desinfetante. O rótulo geralmente indica contra quais grupos de organismos o desinfetante será efetivo. Lembre-se de que a concentração de um desinfetante influencia sua ação; assim, ele sempre deve ser diluído exatamente como especificado pelo fabricante.

Considere também a natureza do material a ser desinfetado. Por exemplo, estão presentes materiais orgânicos que podem interferir com a ação do desinfetante? De modo similar, o pH do meio frequentemente tem um grande efeito na atividade de um desinfetante.

Outra consideração muito importante é se o desinfetante entrará facilmente em contato com os micro-organismos. Uma área pode precisar ser esfregada e lavada antes da aplicação do desinfetante. Em geral, a desinfecção é um processo gradual. Portanto, para ser efetivo, pode ser necessário deixar um desinfetante em contato com uma superfície por várias horas.

Avaliando um desinfetante

Testes de uso-diluição

Existe uma necessidade de se avaliar a efetividade dos desinfetantes e antissépticos. O padrão atual é o **teste de uso-diluição** do *American Official Analytical Chemist*. Cilindros metálicos ou de vidro (8 mm × 10 mm) são mergulhados em culturas padronizadas das bactérias-teste cultivadas em meio líquido, removidas e secas a 37°C por um breve período. As culturas secas são então colocadas em uma solução do desinfetante na concentração recomendada pelo fabricante e deixadas por 10 minutos a 20°C. Após essa exposição,

os cilindros são transferidos a um meio que permitirá o crescimento de quaisquer bactérias sobreviventes. A efetividade do desinfetante pode então ser determinada pelo número de culturas que se desenvolverem.

Variações desse método são usadas para testar a efetividade dos agentes antimicrobianos contra endosporos, micobactérias que causam tuberculose, vírus e fungos, pois esses são difíceis de controlar com produtos químicos. Além disso, os testes de antimicrobianos destinados a objetivos especiais, como a desinfecção diária de utensílios, podem utilizar outras bactérias-teste.

O método de disco-difusão

O **método de disco-difusão** é usado em laboratórios de ensino, para avaliar a eficácia de um agente químico. Um disco de papel filtro é embebido em um produto químico e colocado em uma placa de ágar que foi previamente inoculada e incubada com o organismo-teste. Após incubação, se o produto químico é eficaz, uma zona clara representando a inibição do crescimento pode ser visualizada em torno do disco (**Figura 7.6**).

Discos contendo antibióticos estão comercialmente disponíveis e são usados para determinar a suscetibilidade microbiana aos antibióticos (veja a Figura 20.17, página 572).

Tipos de desinfetantes

Fenol e compostos fenólicos

Lister foi o primeiro a usar o **fenol** (ácido carbólico) para controlar infecções cirúrgicas na sala de operação. O uso de fenol foi sugerido devido à sua capacidade de controlar o odor do esgoto. Nos dias atuais, ele raramente é usado como antisséptico ou desinfetante, pois irrita a pele e tem um odor desagradável. Com frequência é utilizado em pastilhas para a garganta devido a seu efeito anestésico local, mas possui pouco efeito antimicrobiano nas baixas concentrações usadas. Contudo, em concentrações acima de 1% (como em alguns *sprays* para a garganta), o fenol tem um efeito antibacteriano significativo. A estrutura de uma molécula de fenol é mostrada na **Figura 7.7a**.

Os derivados do fenol, denominados de **compostos fenólicos**, contêm uma molécula de fenol que foi quimicamente alterada para reduzir suas propriedades irritantes ou aumentar sua atividade antibacteriana em combinação com um sabão ou detergente. Os compostos fenólicos exercem atividade antimicrobiana lesando as membranas plasmáticas lipídicas, o que resulta em vazamento do conteúdo celular. A parede celular das micobactérias, que causam a tuberculose e a lepra, é rica em lipídeos, tornando-as suscetíveis aos derivados do fenol. Uma propriedade útil dos compostos fenólicos enquanto desinfetantes é que permanecem ativos em presença de compostos orgânicos, são estáveis e persistem por longos períodos após a aplicação. Por esses motivos, os compostos fenólicos são agentes apropriados para desinfecção de pus, saliva e fezes.

Um dos compostos fenólicos usados com mais frequência usados é derivado do alcatrão, um grupo de substâncias químicas denominadas *cresóis*. Um cresol muito importante é o *O-fenilfenol* (veja as Figuras 7.6 e 7.7b), o principal componente da maioria das formulações de Lysol. Os cresóis são ótimos desinfetantes de superfície.

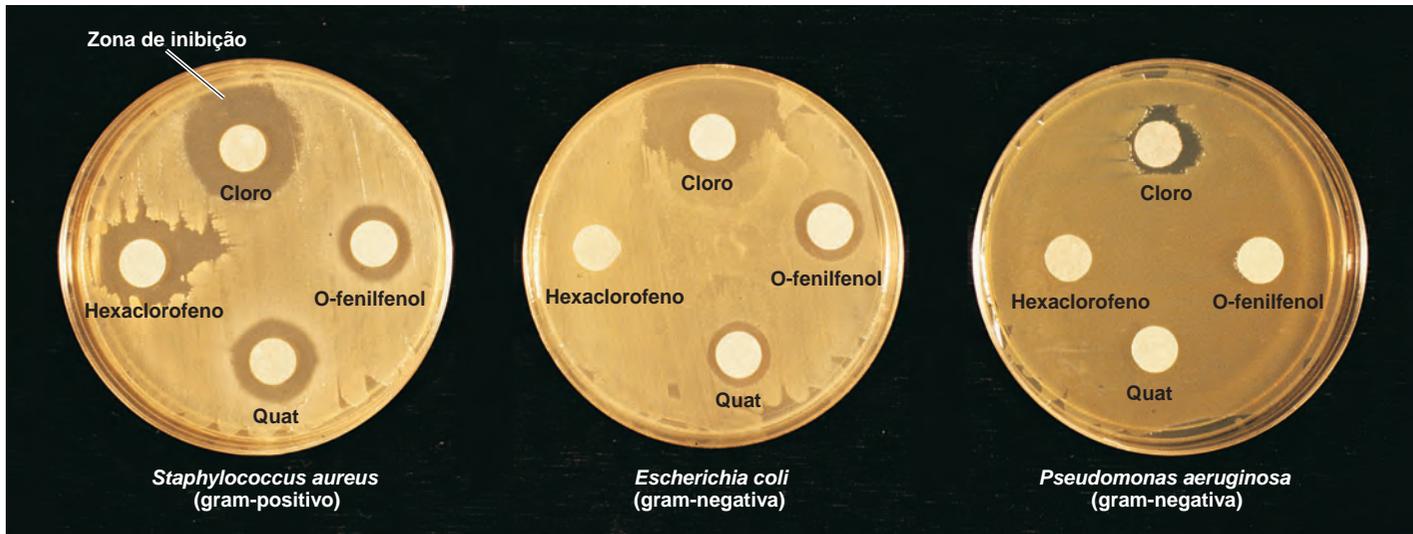


Figura 7.6 Avaliação de desinfetantes pelo método de disco-difusão. Neste experimento, discos de papel são embebidos em uma solução de desinfetante e colocados na superfície de meio nutriente em que uma cultura de bactérias-teste foi semeada para produzir um crescimento uniforme.

No alto de cada placa, verifica-se que o cloro (como no hipoclorito de sódio) foi efetivo contra todas as bactérias-teste, mas foi mais efetivo contra as bactérias gram-positivas.

Na fileira inferior de cada placa, os testes mostraram que o composto de amônio quaternário (“quat”) também foi mais efetivo contra as bactérias gram-positivas, mas não afetou as pseudomonas.

No lado esquerdo de cada placa, o hexaclorofeno foi efetivo somente contra as bactérias gram-positivas. No lado direito, o O-fenilfenol foi ineficaz contra pseudomonas, mas foi quase igualmente eficaz contra as bactérias gram-positivas e as gram-negativas.

Todas as quatro substâncias químicas funcionaram contra as bactérias-teste gram-positivas, mas somente uma das quatro afetou as pseudomonas.

P Qual grupo de bactérias é o mais resistente aos desinfetantes testados?

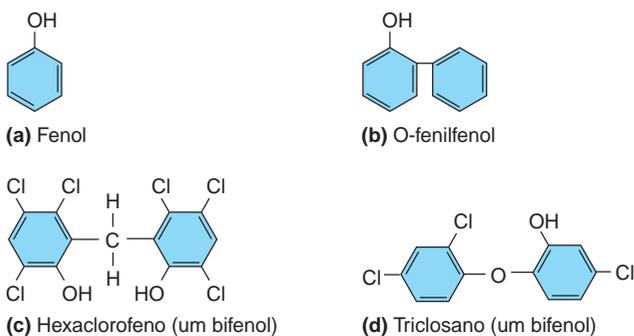


Figura 7.7 A estrutura dos fenólicos e dos bifenóis.

P Alguns produtos com o objetivo de aliviar os sintomas de uma dor de garganta contêm fenol. Por que esta substância foi incluída?

Bifenóis

Os **bifenóis** são derivados do fenol que possuem dois grupos fenólicos ligados por uma ponte (*bi* indica dois). Um bifenol, o *hexaclorofeno* (Figuras 7.6 e 7.7c) é um dos ingredientes da loção pHisoHex, usada em procedimentos de controle microbiano cirúrgico e hospitalar. Estafilococos e estreptococos gram-positivos, que podem causar infecções de pele em recém-nascidos, são especialmente suscetíveis ao hexaclorofeno, que é usado com frequência

para controlar essas infecções em berçários. Contudo, o uso excessivo deste bifenol, como o banho de lactentes com ele várias vezes por dia, pode levar a danos neurológicos.

Outro bifenol amplamente utilizado é o *triclosano* (Figura 7.7d), um dos componentes presentes nas formulações de sabonetes antibacterianos e pastas de dente. O uso do triclosano foi incorporado inclusive em tábuas de cozinha e em cabos de facas e outros utensílios de cozinha feitos de plástico. Seu uso está tão difundido atualmente que bactérias resistentes a este agente já foram relatadas, e há uma preocupação quanto ao efeito do triclosano sobre a resistência de micro-organismos a certos antibióticos. O triclosano inibe a ação de uma enzima necessária para a biossíntese de ácidos graxos (lipídeos), afetando principalmente a integridade da membrana plasmática. É especialmente efetivo contra bactérias gram-positivas, mas também funciona bem contra fungos e bactérias gram-negativas. Existem algumas exceções, como a *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa que é muito resistente ao triclosano, bem como a muitos outros antibióticos e desinfetantes (veja a discussão nas páginas 308, 414 e 591).

Biguanidas

As biguanidas apresentam um amplo espectro de atividade, com um mecanismo de ação que afeta principalmente as membranas celulares bacterianas. Elas são especialmente efetivas contra bac-

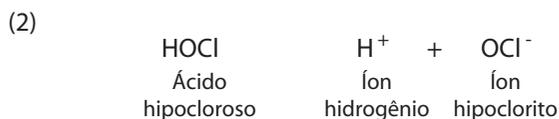
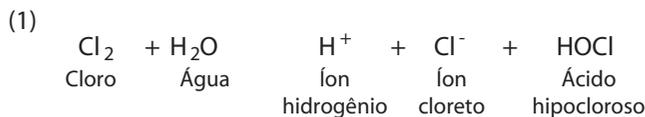
térias gram-positivas. As biguanidas também são efetivas contra bactérias gram-negativas, com exceção da maioria das pseudomonas. Elas não apresentam atividade esporocida, mas possuem alguma ação contra vírus envelopados. A biguanida mais conhecida é a *clorexidina*, frequentemente usada no controle microbiano da pele e das membranas mucosas. Combinada a um detergente ou álcool, a clorexidina também é usada para a escovação cirúrgica das mãos e no preparo pré-operatório da pele de pacientes. A *alexidina* é uma biguanida similar à clorexidina, apresentando, porém, ação mais rápida.

Halogênios

Os **halogênios**, particularmente o iodo e o cloro, são agentes antimicrobianos eficazes, tanto isoladamente quanto como constituintes de compostos inorgânicos ou orgânicos. O *iodo* (I_2) é um dos antissépticos mais antigos e mais eficazes, sendo eficiente contra todos os tipos de bactérias, muitos endosporos, vários fungos e alguns vírus. O iodo impede a síntese de algumas proteínas e causa alterações nas membranas celulares microbianas, aparentemente pela formação de complexos com aminoácidos e ácidos graxos insaturados.

O iodo está disponível como uma **tintura** – isto é, em solução em álcool aquoso – e como um **iodóforo**. Um **iodóforo** é uma combinação de iodo e uma molécula orgânica, da qual o iodo é lentamente liberado. Os iodóforos possuem a atividade antimicrobiana do iodo, mas não mancham e são menos irritantes. O preparado comercial mais comum é o Betadine, que é uma *povidona-iodo*. A povidona é um iodóforo com atividade de superfície que melhora a ação de umedecer e funciona como um reservatório de iodo livre. O iodo é usado principalmente na desinfecção da pele e no tratamento de feridas. Muitos campistas estão familiarizados com seu uso para o tratamento da água.

O *cloro* (Cl_2), como gás ou em combinação com outras substâncias químicas, é outro desinfetante amplamente usado. Sua ação germicida é causada pelo ácido hipocloroso (HOCl) que se forma quando o cloro é adicionado à água:



O ácido hipocloroso é um forte agente oxidante que impede o funcionamento de boa parte do sistema enzimático celular. Esse ácido é a forma mais eficaz de cloro, pois tem carga elétrica neutra e se difunde tão rapidamente quanto a água através da parede celular. Devido à sua carga negativa, o íon hipoclorito (OCl^-) não pode penetrar livremente na célula.

Uma forma líquida de gás cloro comprimido é bastante usada para desinfetar a água potável municipal, a água das piscinas e o esgoto. Vários compostos de cloro também são desinfetantes eficazes. Por exemplo, as soluções de *hipoclorito de cálcio* [$Ca(OCl)_2$] são usadas para desinfetar equipamentos de fábricas de laticínios e utensílios de restaurantes. Esse composto, que um dia foi chama-

do de cloreto de cálcio, já era usado em 1825, muito tempo antes do conceito de uma teoria dos germes e das doenças, para deixar ataduras de molho em hospitais de Paris. Também era o desinfetante usado na década de 1840 por Semmelweis para controlar as infecções hospitalares durante o parto, como mencionado no Capítulo 1, página 11. Outro composto de cloro, o *hipoclorito de sódio* ($NaOCl$; veja a Figura 7.6) é usado como desinfetante doméstico e alvejante (Clorox), como desinfetante em fábricas de laticínios e alimentos, e em sistemas de hemodiálise. Quando a qualidade da água potável é duvidosa, o alvejante doméstico pode fornecer um equivalente aproximado da cloração municipal. Após duas gotas de alvejante serem adicionadas a um litro de água (quatro gotas se a água estiver turva) e a mistura ser armazenada por 30 minutos, a água é considerada segura para beber em condições de emergência.

A indústria de alimentos utiliza soluções de dióxido de cloro como desinfetantes de superfície, pois não deixam odores e sabores residuais. Como desinfetante, o dióxido de cloro possui um amplo espectro de atividade contra bactérias e vírus, sendo também efetivo, quando empregado em altas concentrações, contra cistos e endosporos. Em baixas concentrações, ele pode ser usado como antisséptico (veja também a página 201 para o uso do dióxido de cloro como desinfetante e esterilizante).

Outro grupo importante de compostos de cloro são as *cloraminas*, combinações de cloro e amônia. A maioria dos sistemas municipais de tratamento de água mistura amônia com cloro para formar cloraminas. (As cloraminas são tóxicas aos peixes de aquário, mas a maioria das lojas de animais comercializa substâncias químicas para neutralizá-las.) As forças militares norte-americanas em batalha recebem pastilhas (Chlor-Floc) que contêm *dicloroisocianurato de sódio*, uma forma de cloro combinada a um agente que flocula (coagula) os materiais suspensos em uma amostra de água, fazendo-os precipitar e limpando a água. Cloraminas também são utilizadas para sanitizar louças e utensílios de restaurantes, e para tratar equipamentos de indústrias de laticínios e de alimentos. Elas são compostos relativamente estáveis, que liberam cloro durante períodos prolongados. Também são relativamente eficazes em presença de matéria orgânica, mas possuem a desvantagem de agir mais lentamente e de ser menos eficazes que o hipoclorito.

Alcoóis

Alcoóis matam efetivamente as bactérias e os fungos, mas não os endosporos e os vírus não envelopados. O mecanismo de ação do álcool normalmente é a desnaturação de proteínas, mas ele também pode romper membranas e dissolver muitos lipídeos, incluindo o componente lipídico dos vírus envelopados. Os alcoóis têm a vantagem de agir e então evaporar rapidamente, sem deixar resíduo. Quando a pele é limpa (degerminada) antes de uma injeção, a atividade de controle microbiano provém do fato de simplesmente remover a poeira e os micro-organismos, junto com os óleos cutâneos. Contudo, os alcoóis não são antissépticos satisfatórios quando aplicados em feridas. Eles causam a coagulação de uma camada de proteína, sob a qual as bactérias continuam a crescer.

Dois dos alcoóis mais comumente usados são o etanol e o isopropanol. A concentração ótima recomendada de etanol é 70%,

Concentração de etanol (%)	Tempo de exposição (seg)				
	10	20	30	40	50
	100	C	C	C	C
95	NC	NC	NC	NC	NC
90	NC	NC	NC	NC	NC
80	NC	NC	NC	NC	NC
70	NC	NC	NC	NC	NC
60	NC	NC	NC	NC	NC
50	C	C	NC	NC	NC
40	C	C	C	C	C

Nota: C = houve crescimento; NC = não houve crescimento.

mas concentrações entre 60 e 95% também parecem funcionar (Tabela 7.6). O etanol puro é menos efetivo que soluções aquosas (etanol misturado com água), pois a desnaturação requer água. O isopropanol, com frequência vendido como álcool para limpeza, é levemente superior ao etanol como antisséptico e desinfetante. Além disso, é menos volátil, mais barato e mais facilmente obtido que o etanol. Purell, uma preparação comercial bastante popular usada para a limpeza das mãos, contém 62 a 65% de etanol combinado com hidratantes de pele.

O etanol e o isopropanol em geral são usados para aumentar a efetividade de outros agentes químicos. Por exemplo, uma solução aquosa de Zephiran (descrito na página 199) mata cerca de 40% da população de um organismo-teste em dois minutos, ao passo que uma tintura de Zephiran mata cerca de 85% no mesmo período. Para comparar a efetividade das tinturas e das soluções aquosas, veja a Figura 7.10 na página 200.

Metais pesados e seus compostos

Vários metais pesados podem ser biocidas ou antissépticos, incluindo a prata, o mercúrio e o cobre. A capacidade de quantidades muito pequenas de metais pesados, especialmente a prata e o cobre, de exercerem atividade antimicrobiana é referida como **ação oligodinâmica** (*oligo* significa pouco). Séculos atrás, os egípcios descobriram que colocar moedas de prata em barris de água servia para manter a água limpa de crescimento orgânico indesejável. Essa ação pode ser vista quando colocamos uma moeda ou outra peça limpa de metal contendo prata ou cobre em uma placa de Petri inoculada. Quantidades extremamente pequenas de metal são liberadas da moeda e inibem o crescimento das bactérias a uma certa distância ao redor da moeda (Figura 7.8). Esse efeito é produzido pela ação dos íons de metais



Figura 7.8 Ação oligodinâmica dos metais pesados. Zonas claras onde o crescimento bacteriano foi inibido são vistas em torno do pingente em formato de sombreiro (deslocado para o lado) e das duas moedas. O pingente e a moeda de cinco centavos norte-americana contêm prata; a moeda de um centavo contém cobre.

P As moedas usadas nessa demonstração foram cunhadas há muitos anos. Por que não foram usadas moedas atuais?

pesados sobre os micro-organismos. Quando os íons metálicos se combinam com os grupos sulfidríla nas proteínas celulares, ocorre desnaturação.

A prata é usada como antisséptico em uma solução de *nitrate de prata* a 1%. Antigamente, muitos estados dos Estados Unidos exigiam que os olhos dos recém-nascidos fossem tratados com algumas gotas de nitrato de prata, para prevenir uma infecção dos olhos denominada oftalmia gonorreica neonatal, que os lactentes poderiam contrair ao passar pelo canal do parto. Nos últimos anos, os antibióticos substituíram o nitrato de prata para este propósito.

Recentemente tem havido um interesse renovado na prata como agente antimicrobiano. Bandagens impregnadas que liberam lentamente os íons prata demonstraram ser especialmente úteis contra bactérias resistentes aos antibióticos. O entusiasmo para a incorporação de prata em todos os tipos de produtos de consumo está aumentando. Entre os recentes produtos a venda estão as embalagens plásticas de alimentos inoculadas com nanopartículas de prata, que pretendem manter o alimento fresco, além de camisas e blusas de atletas impregnadas de prata, que prometem minimizar odores.

A fórmula mais comum é uma combinação de prata com a droga sulfadiazina, a *sulfadiazina de prata*. Ela está disponível como creme tópico para ser usado em queimaduras. A prata também pode ser incorporada a cateteres, que são uma fonte comum de infecções hospitalares, e em bandagens para curativos. A *surficina* é um agente antimicrobiano relativamente novo que pode ser aplicado em superfícies animadas e inanimadas. Ela contém prata insolúvel em água impregnada em um polímero carreador, sendo

bastante duradoura e permanecendo no local onde foi aplicada por no mínimo 13 dias. Quando uma bactéria entra em contato com a superfície, a membrana externa da célula é reconhecida, e uma quantidade letal de íons prata é liberada.

Os compostos de mercúrio inorgânico, como o *cloreto de mercúrio*, têm uma longa história de uso como desinfetantes. Eles possuem um espectro muito amplo de atividade; seu efeito é principalmente bacteriostático. Contudo, seu uso agora é limitado devido à sua toxicidade, poder de corrosão e ineficácia em presença de matéria orgânica. Atualmente, o principal uso dos mercuriais é no controle do mofo em tintas.

O cobre em forma de *sulfato de cobre*, ou outros aditivos que contenham cobre, é usado principalmente para destruir as algas verdes (algicida) que crescem em reservatórios, tanques, piscinas e aquários. Se a água não contém matéria orgânica excessiva, os compostos de cobre são efetivos em concentrações de uma parte por milhão de água. Para prevenir o mofo, compostos de cobre como a *8-hidroxiquinolina de cobre* algumas vezes são incluídos na tinta.

Outro metal usado como antimicrobiano é o zinco. O efeito de quantidades traço de zinco pode ser visto nos telhados de prédios construídos com telhas galvanizadas (revestidas com zinco). O telhado adquire cor mais clara onde o crescimento biológico, na maioria das vezes algas, é impedido. Telhas tratadas com cobre e zinco já estão sendo comercializadas. O *cloreto de zinco* é um ingrediente comum em soluções para bochecho, e o *piritionato de zinco* é um componente presente em formulações de xampus anticaspa.

Agentes de superfície

Os **agentes de superfície (tensoativos ou surfactantes)** podem reduzir a tensão superficial entre as moléculas de um líquido. Esses agentes incluem os sabões e os detergentes.

Sabões e detergentes. O sabão tem pouco valor como antisséptico, mas tem uma função importante na remoção mecânica dos micro-organismos pela esfregação. A pele normalmente contém células mortas, pó, suor seco, micro-organismos e secreções oleosas das glândulas sebáceas. O sabão rompe o filme oleoso em gotículas pequenas, um processo denominado *emulsificação*, e água e sabão juntos removem o óleo emulsificado e os resíduos e os fazem flutuar para longe à medida que a pele é lavada. Nesse sentido, os sabões são bons agentes degerminantes.

Sanitizantes ácido-aniônicos. Os desinfetantes de superfície *ácido-aniônicos* são muito importantes na limpeza de utensílios e equipamentos para laticínios. Sua capacidade de limpeza está relacionada à porção carregada (ânion) da molécula, que reage com a membrana plasmática. Eles atuam sobre um amplo espectro de micro-organismos, incluindo as problemáticas bactérias termofílicas, são atóxicos, não corrosivos e possuem rápida ação.

Compostos quaternários de amônio (quats). Os agentes de superfície mais amplamente usados são os detergentes catiônicos, em especial os **compostos quaternários de amônio (quats)**. Sua capacidade de limpeza está relacionada à parte positivamente carregada

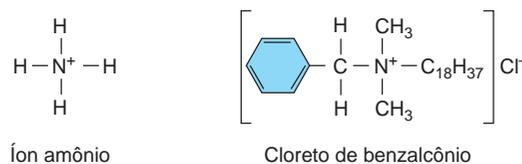


Figura 7.9 O íon amônio e um composto quaternário de amônio, o cloreto de benzalcônio (Zephiran). Observe como outros grupos substituem os hidrogênios do íon amônio.

P Os quats são mais eficazes contra bactérias gram-positivas ou gram-negativas?

– o cátion – da molécula. Seu nome é derivado do fato de que eles são modificações do íon amônio de quatro valências, NH_4^+ (Figura 7.9). Os compostos quaternários de amônio são bactericidas fortes contra as bactérias gram-positivas e um pouco menos ativos contra as gram-negativas (veja a Figura 7.6).

Os quats também são fungicidas, amebicidas e viricidas contra vírus envelopados. Eles não matam os endosporos ou as micobactérias. (Veja o quadro na página 201.) Seu modo de ação química é desconhecido, mas eles provavelmente afetam a membrana plasmática. Eles alteram a permeabilidade celular e causam a perda de constituintes citoplasmáticos essenciais, como o potássio.

Dois quats populares são o Zephiran, o nome comercial do cloreto de benzalcônio (veja a Figura 7.9), e o Cepacol, o nome comercial do cloreto de cetilpiridínio. Eles são antimicrobianos fortes, incolores, inodoros, insípidos, estáveis, facilmente solúveis e atóxicos, exceto em altas concentrações. Se o seu frasco de líquido para higiene oral se enche de espuma quando sacudido, o produto provavelmente contém um quat em sua composição. Contudo, a matéria orgânica interfere com sua atividade, e eles são neutralizados pelos sabões e detergentes aniônicos.

Qualquer pessoa interessada nas aplicações médicas dos quats deve se lembrar de que certas bactérias, como algumas espécies de *Pseudomonas*, não somente sobrevivem nos compostos quaternários de amônio, como também crescem ativamente neles. Esses micro-organismos são resistentes às soluções desinfetantes e às gazes e bandagens embebidas nestas soluções, uma vez que as fibras tendem a neutralizar os quats.

Antes de abordarmos o próximo grupo de agentes químicos, consulte a Figura 7.10, que compara a efetividade de alguns dos antissépticos discutidos.

Conservantes químicos de alimentos

Os conservantes químicos frequentemente são adicionados aos alimentos para retardar sua deterioração. O *dióxido de enxofre* (SO_2) tem sido usado como desinfetante há bastante tempo, especialmente na fabricação de vinho. Homero mencionou o seu uso em *A Odisseia*, escrito cerca de 2800 anos atrás. Entre os aditivos mais comuns estão o benzoato de sódio, o ácido sórbico e o propionato de cálcio. Essas substâncias químicas são ácidos orgânicos simples ou sais de ácidos orgânicos, que o corpo metaboliza prontamente e que em geral são considerados seguros em alimentos. O *ácido sórbico*, ou seu sal mais solúvel, o *sorbato de potássio*, e o *benzoato de sódio* impedem os bo-

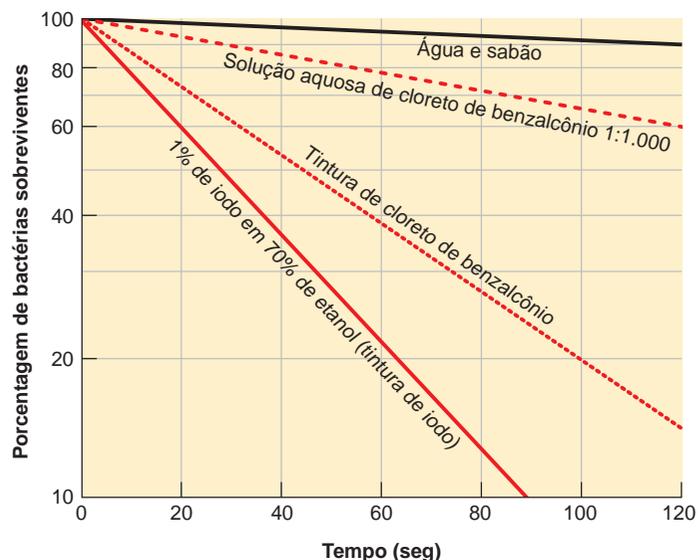


Figura 7.10 Uma comparação da efetividade de vários antissépticos. Quanto maior a inclinação para baixo da curva de morte do antisséptico, mais eficaz ele é. Uma solução de 1% de iodo em 70% de etanol é a mais eficaz; a água e o sabão são os menos eficazes. Observe que uma tintura de cloreto de benzalcônio é mais eficaz que uma solução aquosa do mesmo antisséptico.

P Por que a tintura de cloreto de benzalcônio é mais eficaz que a solução aquosa?

lores de crescerem em certos alimentos ácidos, como o queijo e os refrigerantes. Tais alimentos, geralmente com um pH de 5,5 ou menos, são mais suscetíveis à deterioração pelo mofo. O *propionato de cálcio*, um fungistático efetivo usado em pães, previne o crescimento de bolores em superfícies e da bactéria *Bacillus*, que deteriora o pão. Esses ácidos orgânicos inibem o crescimento de bolores, não por afetar o pH, mas por interferir no metabolismo do bolor ou na integridade de sua membrana plasmática.

O *nitrito de sódio* e o *nitrito de sódio* são adicionados a muitos produtos derivados de carne, como o presunto, o bacon, as salsichas e as linguças. O ingrediente ativo é o nitrito de sódio, que certas bactérias na carne também podem produzir a partir do nitrato de sódio. Essas bactérias usam o nitrato como um substituto do oxigênio em condições anaeróbicas. O nitrito tem duas funções principais: preservar a agradável cor vermelha da carne ao reagir com os componentes do sangue e prevenir a germinação e o crescimento de quaisquer endosporos botulínicos que possam estar presentes. O nitrito inibe seletivamente algumas enzimas de *Clostridium botulinum*. Tem havido alguma preocupação, pois a reação dos nitritos com os aminoácidos pode formar certos produtos carcinogênicos conhecidos como **nitrosaminas**, e a quantidade de nitritos adicionados aos alimentos, de modo geral, foi reduzida recentemente por esta razão. Contudo, o uso de nitritos continua devido ao seu valor comprovado na prevenção do botulismo. Como as nitrosaminas são formadas no corpo a partir de outras fontes, o risco adicional apresentado por um uso limitado de nitratos e nitritos na carne é inferior ao que se pensava anteriormente.

Antibióticos

Os antimicrobianos discutidos neste capítulo não são úteis para ingestão ou injeção no tratamento de doenças. Antibióticos são usados para este objetivo. O uso de antibióticos é altamente restrito; contudo, no mínimo dois têm utilização considerável na conservação dos alimentos. Nenhum deles tem valor para fins clínicos. A *nisina* (veja a página 578), frequentemente adicionada ao queijo para inibir o crescimento de certas bactérias formadoras de endosporos que causam deterioração, é um exemplo de bacteriocina, uma proteína que é produzida por uma bactéria e que inibe outra (veja o Capítulo 8, página 239). A nisina está naturalmente presente em pequenas quantidades em muitos laticínios. Ela é insípida, facilmente digerida e atóxica. A *natamicina* (pimaricina) é um antibiótico antifúngico aprovado para uso em alimentos, principalmente para os queijos.

Aldeídos

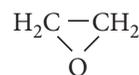
Os **aldeídos** estão entre os antimicrobianos mais efetivos. Dois exemplos são o formaldeído e o glutaraldeído. Eles inativam proteínas formando ligações cruzadas covalentes com vários grupos funcionais orgânicos nas proteínas ($-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ e $-\text{SH}$). O *gás de formaldeído* é um excelente desinfetante. Contudo, sua forma mais comumente disponível é a *formalina*, uma solução aquosa a 37% de gás de formaldeído. A formalina antigamente era bastante usada para conservar amostras biológicas e tornar inativas as bactérias e os vírus nas vacinas.

O *glutaraldeído* é um produto químico menos irritante e mais efetivo que o formaldeído. O glutaraldeído é usado para desinfetar instrumentos hospitalares, incluindo endoscópios e equipamentos de terapia respiratória, mas eles precisam ser primeiramente limpos de forma cuidadosa. Quando usado em uma solução a 2% (Cidex), é bactericida, tuberculocida e viricida em 10 minutos e esporocida em 3 a 10 horas. O glutaraldeído é um dos poucos desinfetantes químicos líquidos que pode ser considerado um agente esterilizante. Contudo, 30 minutos frequentemente são considerados o tempo máximo permitido para a atuação de um esporocida, que é um critério que o glutaraldeído não pode atender. Tanto o glutaraldeído quanto a formalina são usados por agentes funerários para embalsamar.

Um possível substituto para muitos usos do glutaraldeído é o *orto-fitalaldeído* (OFA), que é mais efetivo contra a maioria dos micro-organismos, sendo pouco irritante.

Esterilização química

A esterilização com o uso de agentes químicos líquidos é possível, mas mesmo substâncias químicas esporocidas como o glutaraldeído normalmente não são consideradas esterilizantes na prática. Entretanto, os quimioesterilizantes gasosos frequentemente são utilizados como substituintes de processos físicos de esterilização. Sua aplicação requer a utilização de uma câmara fechada similar a uma autoclave. Provavelmente, o exemplo mais comum seja o *óxido de etileno*:





Infecção após a injeção de esteroides

Neste quadro você encontrará uma série de questões que agentes de controle de infecções se perguntam quando tentam descobrir a origem de uma infecção. Tente responder cada questão antes de passar à próxima.

1. Durante um período de três meses, um médico infectologista reportou ao departamento de saúde 12 pacientes com infecções causadas por *Mycobacterium abscessus* em articulações e tecidos moles. Micobactérias de crescimento lento, incluindo *M. tuberculosis* e *M. leprae*, são patógenos humanos. Estas infecções, entretanto, foram causadas por micobactérias de crescimento rápido (RGMs, de *rapidly growing mycobacteria*).

Onde estas RGMs normalmente são encontradas? (Dica: leia a página 320.)

2. Todos os 12 pacientes receberam injeções para artrite do mesmo médico. O procedimento de injeção consistia na limpeza da pele com chumaços de algodão embebidos em uma solução de Zephiran (1:10), seguidas de antisepsia com *swabs* embebidos em solução de iodo comercial, anestesia da

área com 0,5 mL de lidocaína a 1% aplicado com agulha e seringa estéreis, e injeção de 0,5 a 1,0 mL de betametasona (um corticoide) nas articulações.

Como determinar a origem da infecção?

3. Culturas foram feitas a partir de *swabs* da superfície interna dos recipientes de metal que armazenam pinças e chumaços de algodão. Culturas também foram feitas a partir dos *swabs* de iodo, dos chumaços de algodão com Zephiran, das soluções de lidocaína e betametasona, do Zephiran diluído e não diluído e de uma garrafa lacrada de água destilada usada para diluir o Zephiran.

Que tipo de desinfetante é o Zephiran?

4. *M. abscessus* foram isoladas apenas de chumaços de algodão embebidos em Zephiran. Um ensaio de disco-difusão foi realizado (veja a figura).

Quais foram os dois problemas ocorridos, e como você preveniria futuras infecções?



5. Zephiran diluído não é eficaz contra *M. abscessus*, e a capacidade desinfetante de Zephiran e de outros quats é reduzida pela presença de matéria orgânica, como chumaços de algodão. Para evitar a inoculação de bactérias em pacientes, chumaços de algodão não deveriam ser armazenados no desinfetante.

Fonte: Adaptado de *Clinical Infections Diseases* 36:954-962 (2003).

Sua atividade depende da *alquilação*, isto é, da substituição de átomos de hidrogênio lábeis das proteínas de um determinado grupo químico (como -SH, -COOH ou -CH₂CH₂OH) por um radical. Isso ocasiona a formação de ligações cruzadas em ácidos nucleicos e proteínas, e inibe as funções celulares vitais. O óxido de etileno mata todos os micro-organismos e endosporos, mas requer um período de exposição prolongado de várias horas. Ele é tóxico e explosivo em sua forma pura; assim, normalmente é misturado a um gás não inflamável, como o dióxido de carbono. Entre suas vantagens está o fato de que é possível realizar processos de esterilização à temperatura ambiente e ele é altamente penetrante. Devido à sua capacidade de esterilizar sem calor, alguns hospitais possuem câmaras de óxido de etileno – algumas grandes o suficiente para esterilizar colchões – como parte de seu equipamento de esterilização.

O *dióxido de cloro* é um gás de curta duração que em geral é preparado no local de sua utilização. Notavelmente, ele tem sido utilizado na fumigação de ambientes fechados contaminados com endosporos de antraz. O dióxido de cloro mais estável em soluções aquosas. Seu uso mais comum é no tratamento de água, antes da etapa de cloração, onde seu objetivo é remover ou reduzir a formação de alguns compostos carcinogênicos algumas vezes formados durante a cloração.

Plasmas

Além dos três tradicionais estados da matéria – líquido, gasoso e sólido – um quarto estado deve ser considerado, o plasma. **Plas-**

ma é um estado da matéria no qual um gás é excitado, nesse caso por um campo eletromagnético, para formar uma mistura de núcleos com cargas elétricas variáveis e elétrons livres. Instituições de saúde enfrentam cada vez mais o desafio de esterilizar instrumentos cirúrgicos plásticos ou metálicos utilizados em muitos procedimentos modernos de cirurgias artroscópicas e laparoscópicas. Esses instrumentos possuem tubos longos e ocos, muitos com um diâmetro interior de apenas alguns milímetros, e são difíceis de serem esterilizados. A *esterilização por plasma* é um método confiável para essa finalidade. Os instrumentos são colocados em um recipiente onde uma combinação de vácuo, campo eletromagnético e substâncias químicas como peróxido de hidrogênio (algumas vezes acompanhado de ácido peracético) forma o plasma. Este plasma possui muitos radicais livres, que rapidamente destroem até mesmo micro-organismos formadores de endosporos. A vantagem deste processo, que possui elementos de esterilização tanto química quanto física, é a de requerer apenas baixas temperaturas, embora seja relativamente caro.

Fluidos supercríticos

O uso de fluidos supercríticos em processos de esterilização combina métodos físicos e químicos. Quando dióxido de carbono é comprimido até o ponto de atingir um estado “supercrítico”, ele apresenta propriedades tanto de líquido (com solubilidade aumentada) quanto de gás (com tensão superficial diminuída). Organismos expostos a *dióxido de carbono supercrítico* são inativados, incluindo

a maioria dos organismos vegetativos que causam deterioração e que se desenvolvem em alimentos. Mesmo a inativação dos endosporos requer apenas uma temperatura de cerca de 45°C. Utilizado há vários anos no tratamento de alimentos, o dióxido de carbono supercrítico tem sido usado recentemente para descontaminar implantes, como ossos, tendões ou ligamentos retirados de pacientes doadores.

Peroxigênios e outras formas de oxigênio

Os **peroxigênios** são um grupo de agentes oxidantes que inclui peróxido de hidrogênio e ácido peracético.

O *peróxido de hidrogênio* é um antisséptico encontrado em muitos armários de remédio domésticos e em salas de suprimentos hospitalares. Ele não é um bom antisséptico para feridas abertas, sendo rapidamente degradado em água e oxigênio gasoso pela ação da enzima catalase, que está presente nas células humanas (veja o Capítulo 6, página 162). Contudo, o peróxido de hidrogênio desinfeta efetivamente objetos inanimados, e chega a apresentar efeito esporocida nestas aplicações, especialmente em concentrações elevadas. Em uma superfície inerte, as enzimas normalmente protetoras das bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas são suplantadas pelas altas concentrações de peróxido usadas. Devido a esses fatores, e à sua rápida degradação em água e oxigênio, a indústria de alimentos está aumentando a utilização de peróxido de hidrogênio no empacotamento asséptico (veja a Figura 28.4). Os materiais de empacotamento passam por uma solução quente do produto antes de serem transformados em uma embalagem. Além disso, muitos usuários de lentes de contato estão familiarizados com a desinfecção por peróxido de hidrogênio. Após a desinfecção, um catalisador de platina no kit de desinfecção da lente destrói o peróxido de hidrogênio residual, para que ele não permaneça na lente, onde poderia causar irritação ocular.

Peróxido de hidrogênio aquecido pode ser usado como um esterilizante gasoso. Ele não é tão penetrante quanto o óxido de etileno e não pode ser usado para esterilizar produtos têxteis ou líquidos.

O *ácido peracético* (PAA, *ácido peroxiático*) é um dos mais efetivos esporocidas químicos líquidos disponíveis e pode ser usado como esterilizante. Seu modo de ação é similar ao do peróxido de hidrogênio. Geralmente é efetivo em endosporos e vírus em 30 minutos e mata as bactérias na forma vegetativa e os fungos em menos de cinco minutos. O ácido peracético tem muitas aplicações na desinfecção de equipamentos médicos e de processamento de alimentos, especialmente endoscópios, pois não deixa resíduos tóxicos (apenas água e pequenas quantidades de ácido acético) e é minimamente afetado pela presença de matéria orgânica. A FDA aprovou o uso do PAA para lavagem de frutas e vegetais.

Outros agentes oxidantes incluem o *peróxido de benzoila*, provavelmente mais conhecido como o principal componente dos medicamentos de venda livre (*over-the-counter* – OTC) para acne. O *ozônio* (O₃) é uma forma altamente reativa do oxigênio, gerada pela passagem de oxigênio por descargas elétricas de alta voltagem (veja a Figura 27.16, página 783). Ele é responsável pelo odor fresco do ar após um relâmpago, próximo a faíscas elétricas ou à

luz ultravioleta. O ozônio frequentemente é usado para complementar a cloração na desinfecção da água, pois ajuda a neutralizar sabores e odores. Embora o ozônio seja um agente bactericida mais efetivo que o cloro, sua atividade residual dificilmente é mantida em água.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Por que a escolha do desinfetante seria importante se você desejasse desinfetar uma superfície contaminada por vômito e uma superfície contaminada por perdigotos? **7-7**
- ✓ O que é mais viável de ser usado em um laboratório clínico, um teste de uso-diluição ou um teste de difusão em disco? **7-8**
- ✓ Por que o álcool é efetivo contra alguns vírus e não contra outros? **7-9**
- ✓ A betadina é um antisséptico ou um desinfetante quando utilizada na pele? **7-10**
- ✓ Quais características tornam os agentes de superfície interessantes para a indústria de laticínios? **7-11**
- ✓ Quais desinfetantes químicos podem ser considerados esporocidas? **7-12**
- ✓ Quais substâncias químicas podem ser usadas para esterilização? **7-13**

Características e controle microbiano

OBJETIVO DO APRENDIZADO

- 7-14** Explicar como o controle do crescimento microbiano é afetado pelo tipo de micro-organismo.

Muitos biocidas tendem a ser mais eficientes contra bactérias gram-positivas, enquanto grupo, do que contra bactérias gram-negativas. Esse princípio é ilustrado na **Figura 7.11**, que apresenta uma hierarquia simplificada da resistência relativa dos principais grupos de biocidas microbianos. Um fator fundamental nessa resistência relativa a biocidas é a camada externa de lipopolissacarídeos das bactérias gram-negativas. Entre as bactérias gram-negativas, membros do gênero *Pseudomonas* e *Burkholderia* são de especial interesse. Essas bactérias estritamente relacionadas são muito resistentes aos biocidas (veja a Figura 7.6) e são capazes de crescer ativamente em alguns desinfetantes e antissépticos, mais especificamente em compostos quaternários de amônio. No Capítulo 20, você verá que essas bactérias também são resistentes a muitos antibióticos. Essa resistência a antimicrobianos químicos está relacionada principalmente às características de suas *porinas* (orifícios presentes na parede das bactérias gram-negativas; veja a Figura 4.13c, página 86). As porinas selecionam as moléculas que penetram na célula.

As micobactérias são outro grupo de bactérias não formadoras de endosporos que exibem uma resistência maior que o normal aos biocidas químicos (veja o quadro na página 201). Esse grupo inclui o *Mycobacterium tuberculosis*, o patógeno que causa a tuberculose. A parede celular desse organismo, e de outros membros desse gênero, possui um componente céreo e rico em lipídeos. As instruções nos rótulos de desinfetantes frequentemente especifi-

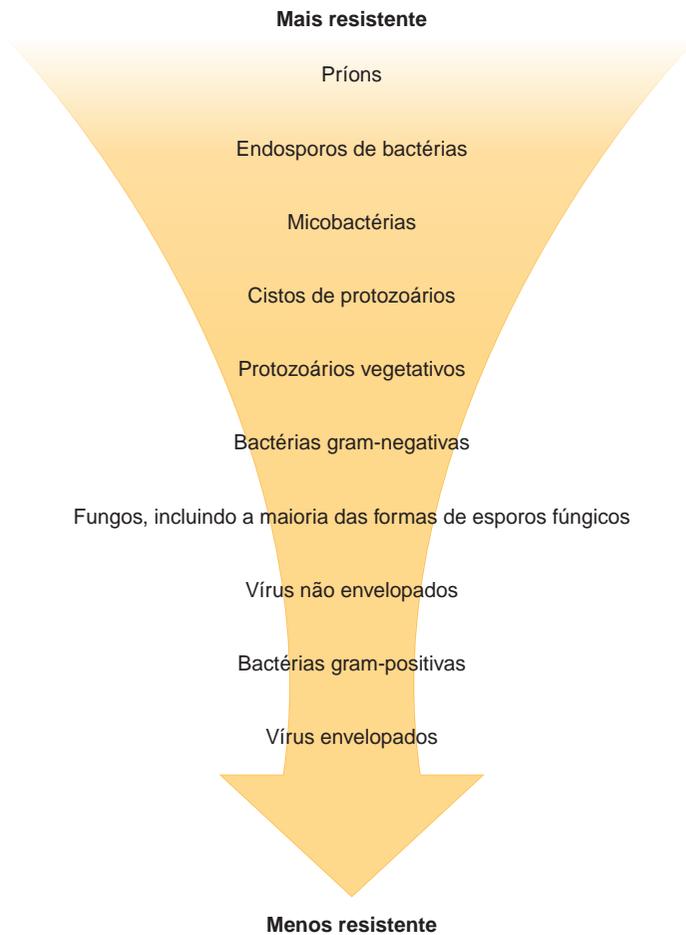


Figura 7.11 Ordem decrescente de resistência de micro-organismos a biocidas químicos.

P Por que os vírus com envelopes lipídicos são relativamente suscetíveis a certos biocidas?

cam se o produto é tuberculocida, indicando se é eficiente contra as micobactérias. Testes tuberculocidas especiais foram desenvolvidos para avaliar a eficácia dos biocidas contra esse grupo bacteriano.

Os endosporos bacterianos são afetados por relativamente poucos biocidas. (A ação dos principais antimicrobianos químicos contra as micobactérias e os endosporos está resumida na **Tabela 7.7**.) Os cistos e oocistos dos protozoários também são relativamente resistentes à desinfecção química.

Os vírus não são especialmente resistentes aos biocidas, com exceção dos vírus que possuem envelope lipídico. Os agentes antimicrobianos que são lipossolúveis possuem maior probabilidade de serem eficientes contra os vírus envelopados. O rótulo desse tipo de agente indicará que ele é efetivo contra vírus lipofílicos. Os vírus não envelopados, que possuem apenas um revestimento proteico, são mais resistentes – uma quantidade menor de biocidas é efetiva contra eles.

Tabela 7.7 Eficácia dos antimicrobianos químicos contra endosporos e micobactérias		
Agentes químicos	Endosporos	Micobactéria
Mercúrio	Sem atividade	Sem atividade
Fenólicos	Baixa	Boa
Bifenóis	Sem atividade	Sem atividade
Compostos quaternários de amônio	Sem atividade	Sem atividade
Cloro e derivados	Leve	Leve
Iodo	Baixa	Boa
Alcoóis	Baixa	Boa
Glutaraldeído	Leve	Boa
Clorexidina	Sem atividade	Leve

Um problema que ainda não foi completamente resolvido é a eliminação dos príons. Os príons são proteínas infecciosas que causam doenças neurológicas, as encefalopatias espongiformes, como a doença popularmente conhecida como “síndrome da vaca louca” (veja o Capítulo 22, página 631). Para destruir os príons, as carcaças de animais infectados são incineradas. Um grande problema, no entanto, é a desinfecção de instrumentos cirúrgicos expostos à contaminação por príons. O processo normal de autoclave é comprovadamente inadequado. A Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) recomendam o uso combinado de uma solução de hidróxido de sódio e da autoclave a uma temperatura de 134°C. Contudo, estudos recentes mostraram que instrumentos cirúrgicos foram tratados com eficácia para a inativação dos príons, que são proteínas, pela adição de proteases à solução de lavagem.

Em resumo, é importante lembrar que os métodos de controle microbiano, especialmente os biocidas, não apresentam eficácia uniforme contra todos os micro-organismos.

TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Sabe-se que a presença ou a ausência de endosporos interfere no controle microbiano, mas por que as bactérias gram-negativas são mais resistentes aos biocidas que as bactérias gram-positivas? **7-14**

* * *

A **Tabela 7.8** resume os agentes químicos usados para controlar o crescimento microbiano.

Os compostos discutidos neste capítulo geralmente não são úteis no tratamento de doenças. Os antibióticos e os patógenos contra os quais eles são ativos serão discutidos no Capítulo 20.

Tabela 7.8 Agentes químicos usados no controle do crescimento microbiano			
Agente químico	Mecanismo de ação	Uso preferencial	Comentário
Fenol e compostos fenólicos			
1. Fenol	Ruptura da membrana plasmática, desnaturação das enzimas.	Raramente usado, exceto como padrão de comparação.	Raramente usado como desinfetante ou antisséptico devido às possibilidades de irritação e odor desagradável.
2. Compostos fenólicos	Ruptura da membrana plasmática, desnaturação das enzimas.	Superfícies ambientais, instrumentos, superfícies cutâneas e membranas mucosas.	Os derivados do fenol são reativos mesmo em presença de material orgânico; um exemplo é o O-fenilfenol.
3. Bifenóis	Provavelmente ruptura da membrana plasmática.	Sabonetes para as mãos e loções hidratantes.	O triclosano é um exemplo especialmente comum de um bifenol. É de amplo espectro, porém mais eficaz contra gram-positivos.
Biguanidas (clorexidina)	Ruptura da membrana plasmática.	Antissepsia da pele, especialmente para escovação cirúrgica.	Bactericida contra gram-positivos e gram-negativos, atóxico, persistente.
Halogênios	O iodo inibe a função das proteínas e é um forte agente oxidante; o cloro forma o agente oxidante forte ácido hipocloroso, que altera os componentes celulares.	O iodo é um antisséptico eficaz disponível como tintura e como iodóforo; o gás cloro é usado para desinfetar a água; os compostos de cloro são usados para desinfetar o equipamento de fábricas de laticínios, utensílios para refeições, itens domésticos e vidrarias.	O iodo e o cloro podem agir isoladamente ou como componentes de compostos inorgânicos e orgânicos.
Alcoóis	Desnaturações das proteínas e dissolução dos lipídeos.	Termômetros e outros instrumentos; ao limpar a pele com álcool antes de uma injeção, a maior parte da ação desinfetante provavelmente provém de simplesmente remover (degerminar) o pó e alguns micro-organismos.	Bactericida e fungicida, mas ineficaz contra endosporos ou vírus não envelopados; alcoóis comumente usados são o etanol e o isopropanol.
Metais pesados e seus compostos	Desnaturações das enzimas e outras proteínas essenciais.	O nitrato de prata pode ser usado para prevenir a oftalmia gonorréica neonatal; a sulfadiazina de prata pode ser usada como um creme tópico para as queimaduras; o sulfato de cobre é um algicida.	Os metais pesados como a prata e o mercúrio são biocidas.
Agentes de superfície			
Sabões e detergentes	Remoção mecânica de micro-organismos por meio de escovação.	Degerminação da pele e remoção de resíduos.	Muitos sabões antibacterianos contêm antimicrobianos.
Sanitizantes ácido-aniónicos	Incerto; pode envolver a inativação ou a ruptura de enzimas.	Sanitização em indústrias de processamento de laticínios e alimentos.	Amplo espectro de atividade; atóxicos, não corrosivos e de ação rápida.
Compostos quaternários de amônio (detergentes catiónicos)	Inibição enzimática, desnaturações das proteínas, ruptura das membranas plasmáticas.	Antisséptico para a pele, instrumentos, utensílios, objetos de borracha.	Bactericidas, bacteriostáticos, fungicidas e viricidas contra vírus envelopados; exemplos de quat são o Cepacol e o Zephan.
Conservantes químicos de alimentos			
Ácidos orgânicos	Inibição metabólica, afetando principalmente os bolores; a ação não está relacionada à acidez.	Ácido sórbico e ácido benzoico efetivos em baixo pH; parabenos muito usado em cosméticos e xampus; propionato de cálcio usado no pão.	Amplamente usados para controlar bolores e algumas bactérias em alimentos e cosméticos.
Nitratos/nitritos	O componente ativo é o nitrito, que é produzido pela ação de bactérias sobre o nitrato. Os nitritos inibem algumas enzimas dos anaeróbicos.	Produtos derivados da carne como presunto, bacon, salsichas e linguças.	Previnem o crescimento de <i>Clostridium botulinum</i> em alimentos; também conferem coloração avermelhada.

Tabela 7.8 (continuação)			
Agente químico	Mecanismo de ação	Uso preferencial	Comentário
Aldeídos	Desnaturação das proteínas.	O glutaraldeído (Cidex) é menos irritante que o formaldeído e é usado para a desinfecção de equipamentos médicos.	Antimicrobianos muito efetivos.
Esterilização química			
Óxido de etileno e outros esterilizantes gasosos	Inibe funções vitais da célula.	Principalmente para esterilização de objetos que seriam danificados pelo calor.	O óxido de etileno é o mais comumente usado. Peróxido de hidrogênio aquecido e dióxido de cloro apresentam usos específicos.
Esterilização por plasma	Inibe funções vitais da célula.	Especialmente útil para instrumentos médicos tubulares.	Geralmente peróxido de hidrogênio excitado em vácuo por um campo eletromagnético.
Fluidos supercríticos	Inibem funções vitais da célula.	Especialmente úteis para a esterilização de implantes médicos.	Dióxido de carbono comprimido a um estado supercrítico.
Peroxigênicos e outras formas de oxigênio	Oxidação.	Superfícies contaminadas; alguns ferimentos profundos, em que eles são muito efetivos contra os anaeróbicos sensíveis ao oxigênio.	O ozônio é amplamente usado como suplemento para a cloração; o peróxido de hidrogênio é um antisséptico fraco, mas um bom desinfetante. O ácido peracético é especialmente efetivo.

RESUMO PARA ESTUDO

A terminologia do controle microbiano

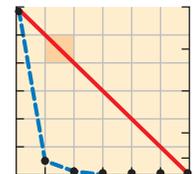
(p. 185, 186)

1. O controle do crescimento microbiano pode prevenir infecções e a deterioração dos alimentos.
2. A esterilização é o processo de remoção ou destruição de toda a vida microbiana em um objeto.
3. A esterilização comercial é o tratamento com calor dos alimentos enlatados para destruir os endosporos de *C. botulinum*.
4. A desinfecção é o processo que visa reduzir ou inibir o crescimento microbiano em uma superfície inanimada.
5. Antissepsia é o processo de redução ou inibição dos micro-organismos em tecidos vivos.
6. O sufixo *-cida* significa matar; o sufixo *-statico* significa inibir.
7. Sepsé é a contaminação bacteriana.

A taxa de morte microbiana (p. 186)

1. As populações bacterianas sujeitas ao calor ou a produtos químicos antimicrobianos normalmente morrem a uma taxa constante.

2. Esta curva de mortalidade, quando representada logaritmicamente, mostra a taxa constante de morte como uma linha reta.
3. O tempo necessário para a morte de uma população microbiana é proporcional ao número de micro-organismos.
4. As espécies microbianas e as fases do ciclo de vida (p. ex., endosporos) possuem diferentes suscetibilidades aos controles físico e químico.
5. A presença de matéria orgânica pode interferir nos tratamentos de calor e na utilização de agentes de controle químico.
6. Exposições prolongadas a menos calor podem produzir o mesmo efeito que um período mais curto sob calor mais intenso.



Ações dos agentes de controle microbiano (p. 186, 187)

Alteração na permeabilidade da membrana (p. 186)

1. A suscetibilidade da membrana plasmática se deve a seus componentes lipídicos e proteicos.

2. Certos agentes de controle químico lesam a membrana plasmática, alterando sua permeabilidade.

Danos às proteínas e aos ácidos nucleicos (p. 187)

3. Alguns agentes de controle microbiano lesam as proteínas celulares ao romper as ligações de hidrogênio e as ligações covalentes.
4. Outros agentes interferem com a replicação do DNA e do RNA e com a síntese proteica.

Métodos físicos de controle microbiano

(p. 187-194)

Calor (p. 188-191)

1. O calor frequentemente é usado para eliminar micro-organismos.
2. O calor úmido mata os micro-organismos pela desnaturação das enzimas.
3. O ponto de morte térmica (PMT) é a menor temperatura em que todos os micro-organismos em uma cultura líquida serão mortos em 10 minutos.
4. O tempo de morte térmica (TMT) é a duração de tempo necessária para matar todas as bactérias em uma cultura líquida a uma dada temperatura.
5. O tempo de redução decimal (TRD) é a duração de tempo necessária para que 90% de uma população bacteriana sejam mortos a uma dada temperatura.
6. A fervura (100°C) mata muitas células vegetativas e vírus em 10 minutos.
7. A autoclave (vapor sob pressão) é o método mais efetivo de esterilização com calor úmido. O vapor deve entrar em contato direto com o material a ser esterilizado.
8. Na pasteurização HTST, uma alta temperatura é usada por um curto período (72°C por 15 segundos) para destruição dos patógenos sem alterar o sabor do alimento. O tratamento com temperaturas ultraelevadas (UHT) (140°C por 4 segundos) é usado para esterilizar laticínios.
9. Os métodos de esterilização com calor seco incluem a chama direta, a incineração e a esterilização com ar quente. O calor seco mata por oxidação.
10. Diferentes métodos que produzem o mesmo efeito (redução no crescimento microbiano) são denominados tratamentos equivalentes.

Filtração (p. 191)

11. A filtração é a passagem de um líquido ou gás através de um filtro com poros pequenos o suficiente para reter os micro-organismos.
12. Os micro-organismos podem ser removidos do ar por filtros de partículas de alta eficiência (HEPA).
13. Os filtros de membrana compostos de ésteres de celulose são comumente usados para filtrar bactérias, vírus e mesmo proteínas de alto peso molecular.

Baixas temperaturas (p. 191, 192)

14. A eficácia das baixas temperaturas depende do micro-organismo e da intensidade da aplicação.
15. A maioria dos micro-organismos não se reproduz em temperaturas comuns de refrigerador (0 a 7°C).
16. Muitos micro-organismos sobrevivem (mas não crescem) nas temperaturas abaixo de zero, usadas para armazenar alimentos.

Alta pressão (p. 192)

17. A alta pressão desnatura as proteínas das células na forma vegetativa.

Dessecação (p. 192)

18. Na ausência de água, os micro-organismos não podem crescer, mas podem permanecer viáveis.
19. Vírus e endosporos podem resistir à dessecação.

Pressão osmótica (p. 192)

20. Os micro-organismos em altas concentrações de sais e açúcares sofrem plasmólise.
21. Os bolores e as leveduras são mais capazes que as bactérias de crescer em materiais com baixa umidade ou alta pressão osmótica.

Radiação (p. 192-194)

22. Os efeitos da radiação dependem de seu comprimento de onda, intensidade e duração.
23. A radiação ionizante (raios gama, raios X e feixes de elétrons de alta energia) tem um alto grau de penetração e exerce seu efeito principalmente ionizando a água e formando radicais hidroxila altamente reativos.
24. A radiação ultravioleta (UV), uma forma de radiação não ionizante, tem baixo grau de penetração e causa lesão celular pela formação de dímeros de timina no DNA, que interferem na replicação do DNA; o comprimento de onda germicida mais efetivo é 260 nm.
25. As micro-ondas podem matar os micro-organismos indiretamente à medida que os materiais se aquecem.

Métodos químicos de controle microbiano (p. 195-202)

1. Os agentes químicos são usados em tecidos vivos (como antissépticos) e em objetos inanimados (como desinfetantes).
2. Poucos agentes químicos proporcionam a esterilidade.

Princípios da desinfecção efetiva (p. 195)

3. Muita atenção deve ser dada às propriedades e à concentração do desinfetante a ser usado.
4. A presença de matéria orgânica, o grau de contato com os micro-organismos e a temperatura também devem ser considerados.

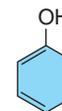
Avaliando um desinfetante (p. 195)

5. No teste de uso-diluição, a sobrevivência bacteriana na diluição de um desinfetante recomendada pelo fabricante é determinada.
6. Vírus, bactérias formadoras de endosporos, micobactérias e fungos também podem ser usados no teste de uso-diluição.
7. No método de disco-difusão, um disco de papel de filtro é embebido em uma substância química e colocado em uma placa de ágar inoculada; a presença de uma zona de inibição indica efetividade.

Tipos de desinfetantes (p. 195-202)

Fenol e compostos fenólicos (p. 195)

8. Os compostos fenólicos exercem sua ação lesando as membranas plasmáticas.



Bifenóis (p. 196)

9. Bifenóis, como o triclosano (venda liberada) e o hexaclorofeno (prescrito), são amplamente usados em produtos domésticos.

Biguanidas (p. 196, 197)

10. As biguanidas lesam as membranas plasmáticas das células na forma vegetativa.

Halogênios (p. 197)

11. Alguns halogênios (iodo e cloro) são usados isoladamente ou como componentes de soluções inorgânicas ou orgânicas.