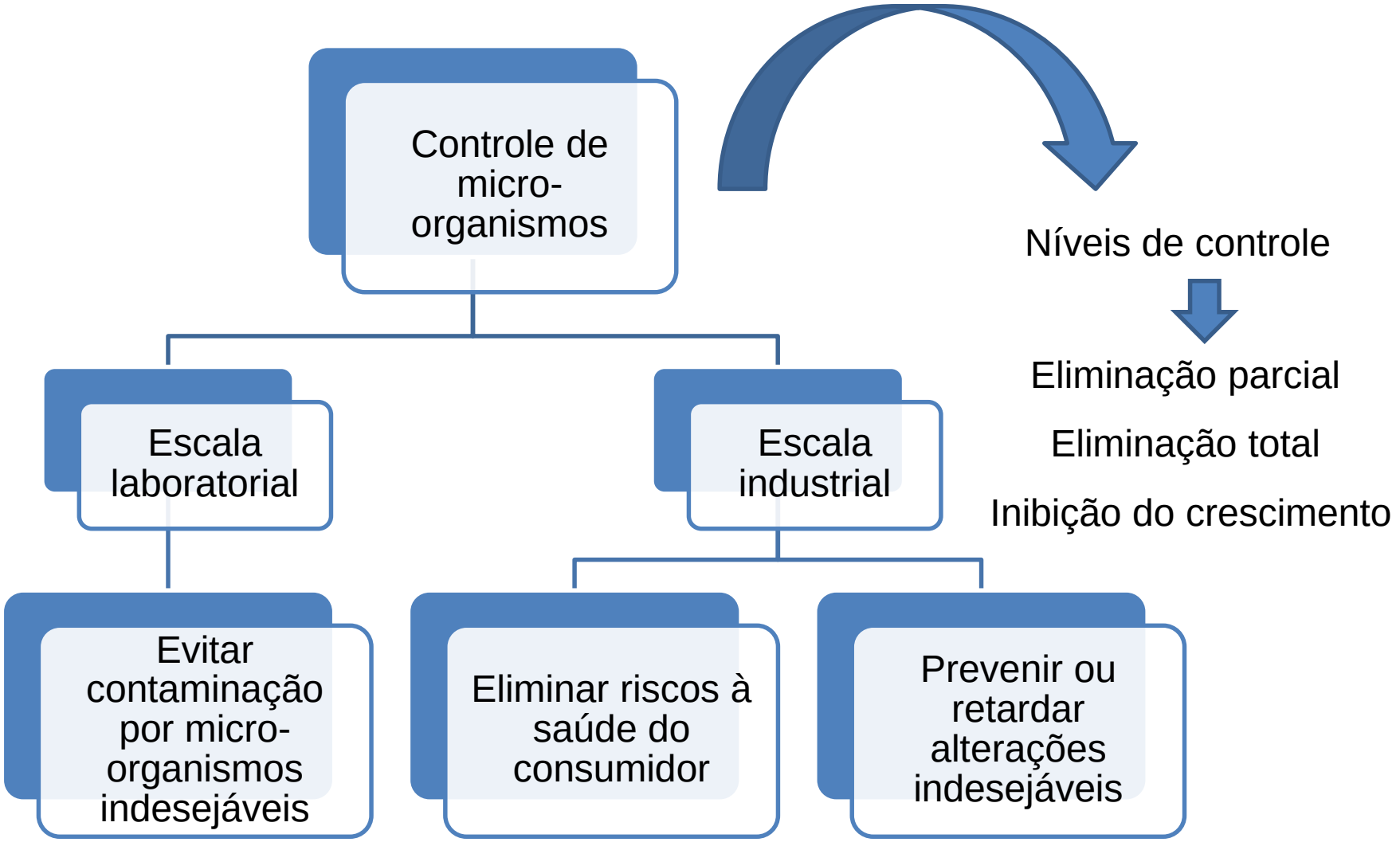
Curso Técnico em Química
Disciplina: Microbiologia

Controle de microrganismos

Professora Melissa Kayser

Controle de microrganismos



Controle de microrganismos

Eliminação parcial ou Eliminação total

MORTE: Perda irreversível da capacidade de reprodução – ação **microbiocida** (morte rápida do microrganismo)

Inibição do crescimento

INIBIÇÃO: Bloqueio da multiplicação – ação **microbiostática** (microrganismos vivo não multiplica – morte lenta)

Controle de microrganismos

TRATAMENTOS MICROBICIDAS: são aqueles que matam os microrganismos.

Esterilização

Antissepsia

TRATAMENTOS MICROBIOSTÁTICOS: são aqueles que só inibem o crescimento microbiano. Parecem mortas, mas quando o tratamento foi interrompido, elas tornam a crescer.

Desinfecção

Descontaminação

Controle de microrganismos

ESTERILIZAÇÃO: destrói toda a vida microbiana.

ANTISSEPSIA: mata os microrganismos em tecido vivo.

DESINFECÇÃO (SANITIZAÇÃO): reduz o número de patógenos a um nível em que não sejam mais um risco de doença, em matéria inanimada.

DESCONTAMINAÇÃO: torna segura uma superfície que foi fortemente exposta aos microrganismos.

ESTERILIZAR UM INSTRUMENTO TAMBÉM DESINFETA E DESCONTAMINA

Controle de microrganismos

Tipos de tratamento para controle de microrganismos:

Químicos:

Produto químicos

Eficiência depende:
Tipo e número de microrganismos
Estado fisiológico das células
Tempo de exposição

Físicos:

Calor

Frio

Radiação

Filtração

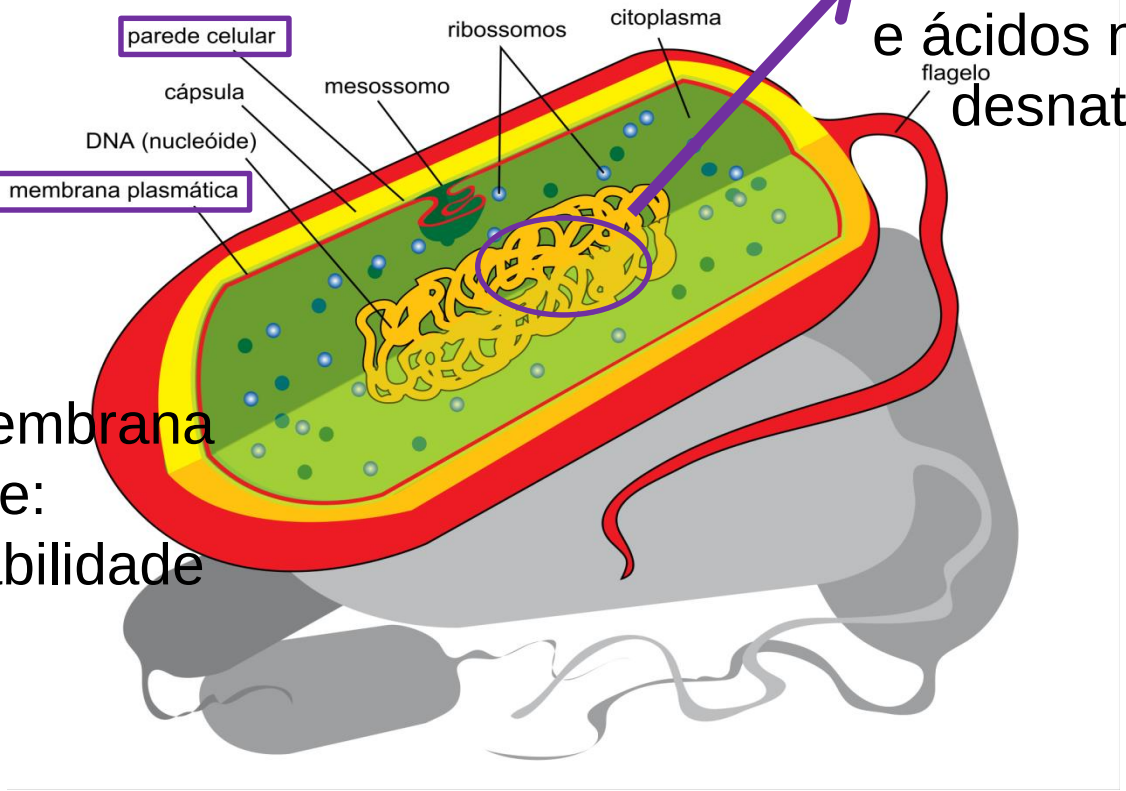
Dessecação

Pressão osmótica

Controle de microrganismos

Os métodos de controle microrganismos podem atuar de diferentes formas na célula:

Rompimento das ligações das proteínas e ácidos nucleicos: desnaturação



Lesões na membrana e parede: altera permeabilidade

Controle de microrganismos

CALOR

- É o mais efetivo → MICROBICIDA
- É o melhor método se o material a ser tratado não for sujeito a danos causados pelo calor

desnaturação de proteínas, levando a perda da integridade celular e morte

- O calor penetra, eliminando os microrganismos do objeto

outros tratamentos esterilizam apenas as superfícies que tocam, como luz ultravioleta e substâncias químicas.

Controle de microrganismos

CALOR

Calor seco
Tempo x Temperatura
Oxidação de componentes dos microrganismos
Flambagem
Estufas e fornos
Incineração

Temperaturas mais baixas
Alto calor latente
(conserva mais o calor)
Elevado poder de penetração

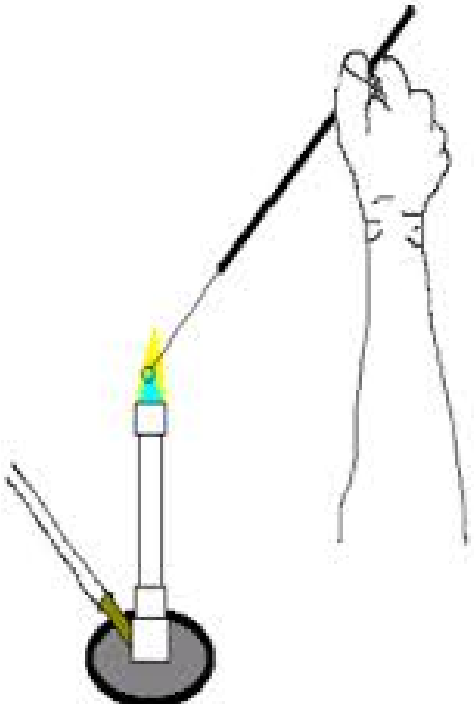
Calor úmido
Tempo x Temperatura x Umidade
Desnaturação de ácidos nucléicos e proteínas
Fluidificação de lipídeos da membrana
Esterilização
Água em ebulição

Controle de microrganismos

CALOR SECO

❖ **Flambagem**

- Ocorre destruição do microrganismo pelo Calor direto → a alça de vidro ou a alça de platina é levada à chama de um bico de Bunsen

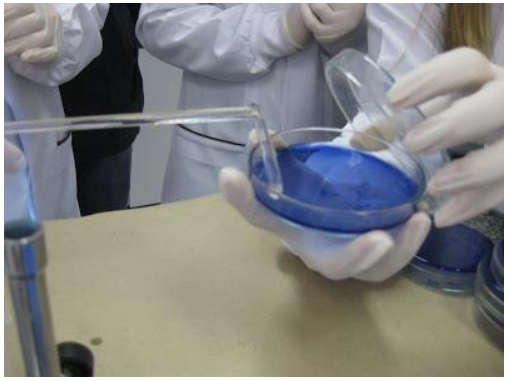


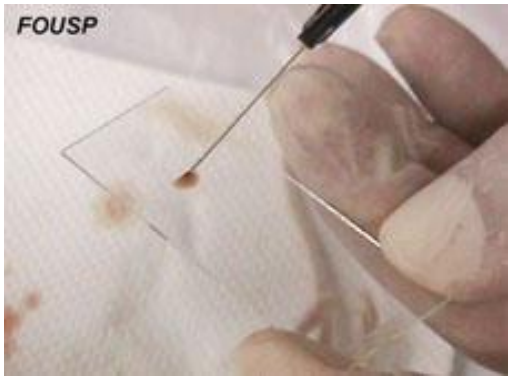
Controle de microrganismos

CALOR SECO

❖ **Flambagem**

- Utilizado para isolamento de culturas pela técnica de espalhamento, e na confecção de esfregaço para coloração e visualização de microrganismos, como na coloração de Gram.



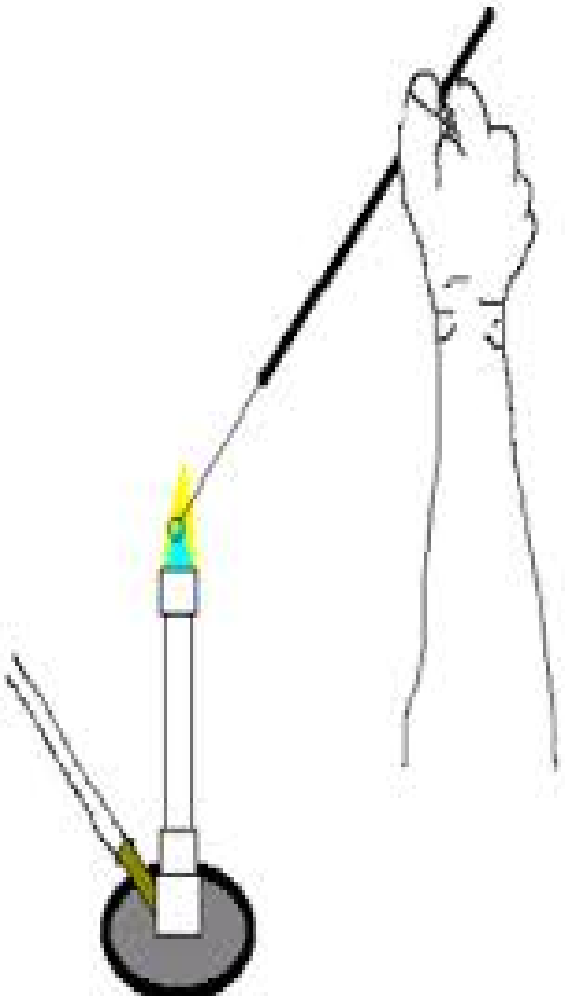


Controle de microrganismos

CALOR SECO

❖ **Flambagem**

- Colocar a alça em contato primeiro com a chama redutora, em que a temperatura é menor, numa inclinação de 45°, e depois na chama oxidante.
- Deixar até ficar vermelha.
- Esfriar antes de colocar em contato com os microrganismos.



Controle de microrganismos

CALOR SECO

❖ **Estufas e fornos**

- Recomendado quando o contato direto ou o uso do calor úmido com o material é considerado indesejável.

vidrarias, placas, pipetas, tesouras, materiais em aço inox

- O material deve estar limpo, deve ser embalado em papel pardo ou em sacos resistentes, com fita adesiva indicadora.

Controle de microrganismos

CALOR SECO

- **Estufas e fornos**

170 a 205°C
120 min

Controle de microrganismos

CALOR SECO

❖ **Estufas e fornos**

- Distribuir o material uniformemente;
- Nunca encher mais que 80% da capacidade;
- O tempo só é contado quando atinge a temperatura;
- Não abrir a porta antes de esfriar;
- Ventilação para distribuir o calor;
- Controle periódico da temperatura.

Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

- **Autoclave**

121 a 134°C
15 a 30 min

Tempo x Temperatura x Umidade
+
PRESSÃO

↓

é o agente mais seguro e eficiente para fins de esterilização, proporcionando temperaturas mais elevadas que as obtidas por ebulição

↓

Meios de cultura, roupas, instrumentos, material contaminado, equipamentos

Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

❖ Autoclave

- Material é limpo e embalado, de maneira que não tenha contato com o ambiente e micro-organismos após a esterilização.

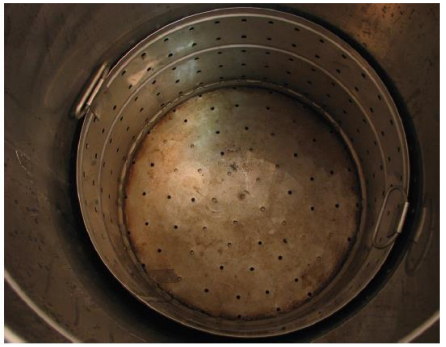
- Normalmente se usa papel pardo, ou são feitos pacotes ou a boca das vidrarias são tapadas.

- Também deve se utilizar a fita indicadora, pra não confundir material contaminado com esterilizado.

Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

❖ **Autoclave**



- Antes de iniciar o processo, deve-se conferir o nível da água, que deve cobrir as resistência, quase encostando no cesto.

- O material deve ser distribuído também de maneira uniforme e não ultrapassando 80% da capacidade.

- Deve-se fechar a tampa, apertando as travas opostas, pra que seja usada a mesma força, nos lados opostos.

Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

❖ **Autoclave**

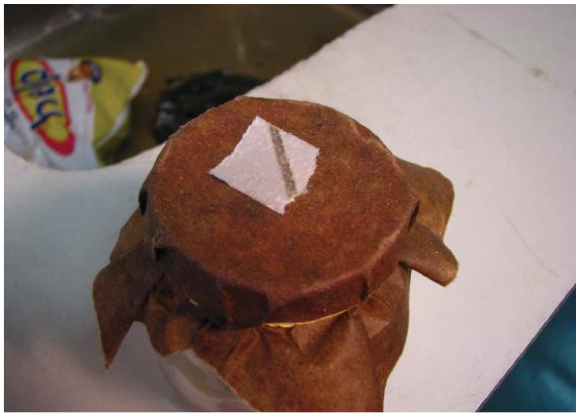
- Ligar a chave no máximo e esperar sair vapor de água pela válvula.
- Quando começar a sair vapor, fechar a válvula e esperar pressão e temperatura subirem.
- Quando atingir 121°C , colocar no médio e contar o tempo.

Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

❖ **Autoclave**

- Desligar e esperar temperatura e pressão baixarem para abrir.
- O material sai úmido, devendo ser seco em estufa antes de ser guardado.



Controle de microrganismos

CALOR ÚMIDO

- **Água em ebulição (fervura)**

100°C
30 min

Destrói células vegetativas, fungos, vírus → 10 minutos

Esporos e termofílicos → podem resistir

Capaz de eliminar a maioria dos patógenos → 30 minutos

-Esporos de *C. botulinum* → 5,5 horas

-Esterilização → 4 a 5 minutos

O problema de utilizar em laboratório é que o material não seria embalado, ficando sujeito à contaminação futura.

Controle de microrganismos

FRIO

- NÃO mata a maioria dos microrganismos → MICROBIOSTÁTICO

armazenamento frio → é usado para preservação, armazenamento por períodos limitados.

microrganismos que não morrem permanecem em estado de congelamento.

- CHOQUE FRIO – quando uma cultura em crescimento de repente é resfriada, muitos microrganismos são imediatamente mortos (nitrogênio líquido). Tem exceção!

Controle de microrganismos

FRIO

Frio em alimentos → cristais de gelo

↓

Microrganismos → muito pequenos para que se formem cristais de gelo dentro

↓

Morrem pela alta força osmótica que se desenvolve enquanto a água congela no ambiente externo.

Controle de microrganismos

Agentes conservantes para criopreservação

Considerando a importância da conservação de microrganismos por longos períodos, na tentativa de prevenção ou até mesmo na redução dos efeitos adversos dos métodos de preservação de amostras biológicas, por uma descoberta acidental, verificaram a proteção efetiva do **glicerol** sobre materiais biológicos. Posteriormente, a ação protetora de outras substâncias foram descobertas e intensamente utilizadas na rotina laboratorial, como o **dimetilsulfóxido (DMSO).**

Deste modo, uma maior quantidade de água permanece no estado líquido sob baixas temperaturas, levando a redução na concentração intracelular de solutos e proporcionando um ambiente menos prejudicial aos microrganismos durante o congelamento.

Estes compostos são capazes de realizar ligações com as moléculas de água, levando a uma significativa redução na formação e no tamanho dos cristais de gelo intracelular, os quais danificam a membrana celular.

Controle de microrganismos

FRIO

Refrigeração:
4 a 7ºC

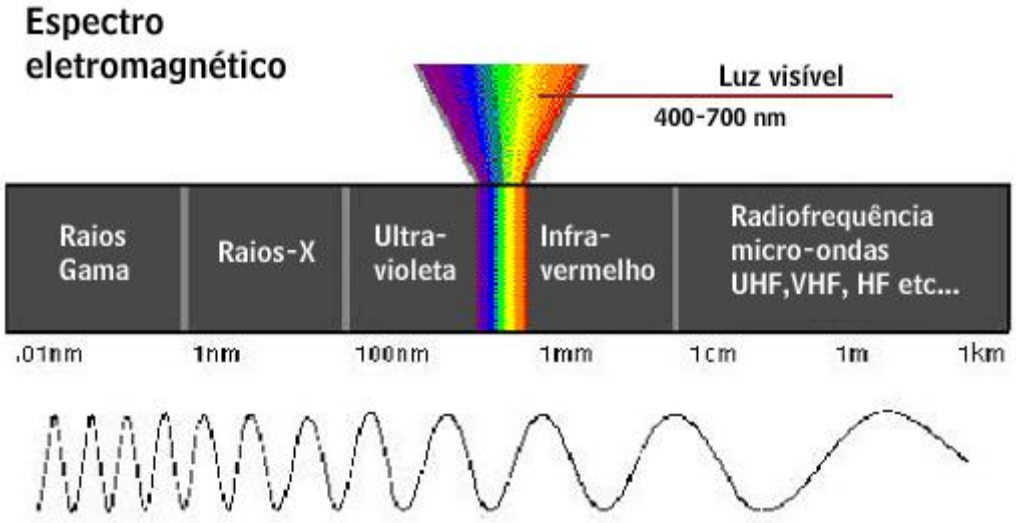
Nitrogênio líquido:
-196ºC

Congelamento:
-20 a -70ºC

Controle de microrganismos

RADIAÇÃO

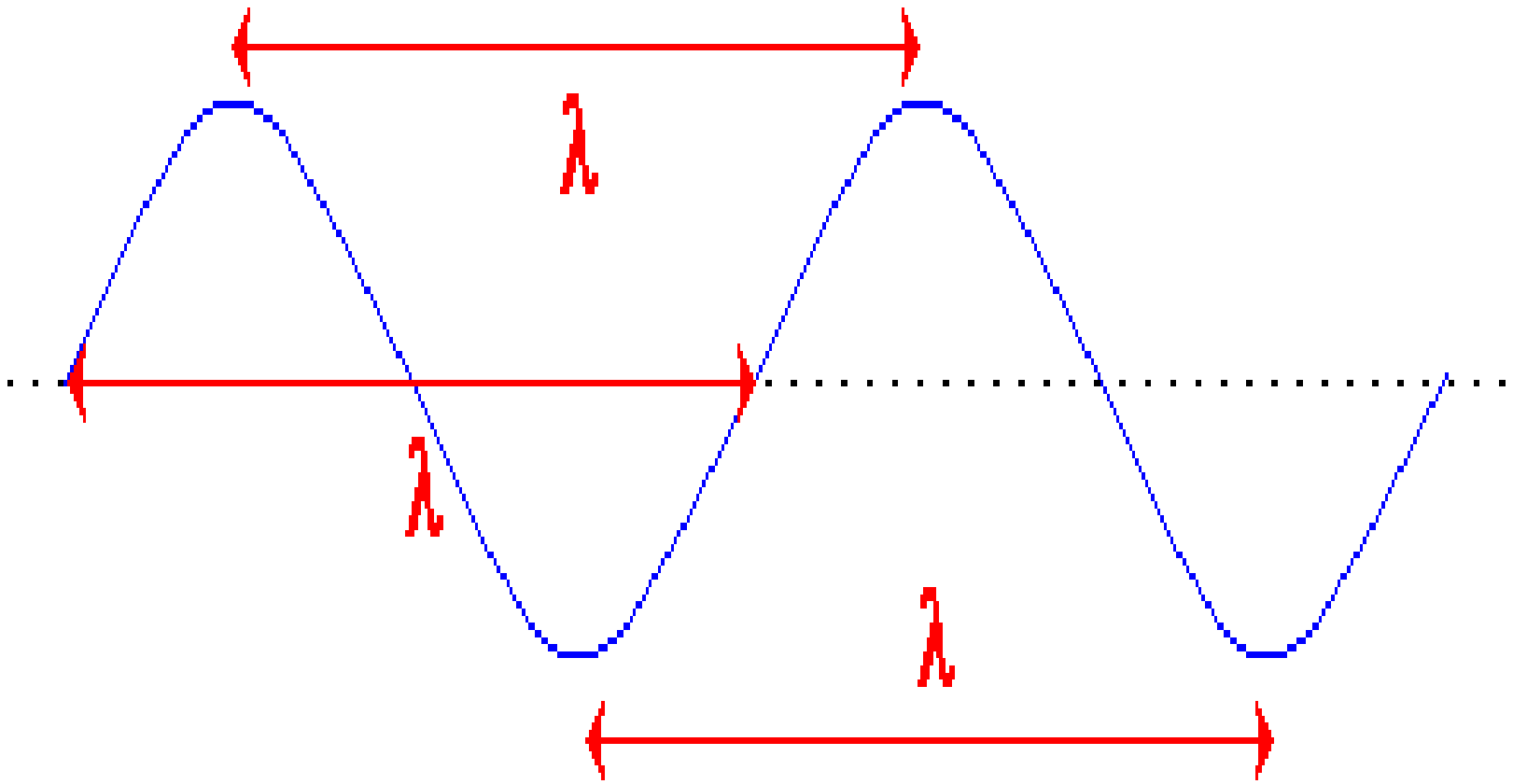
- Radiação com luz visível e com comprimento de onda mais longo não é significativamente letal aos microrganismos.



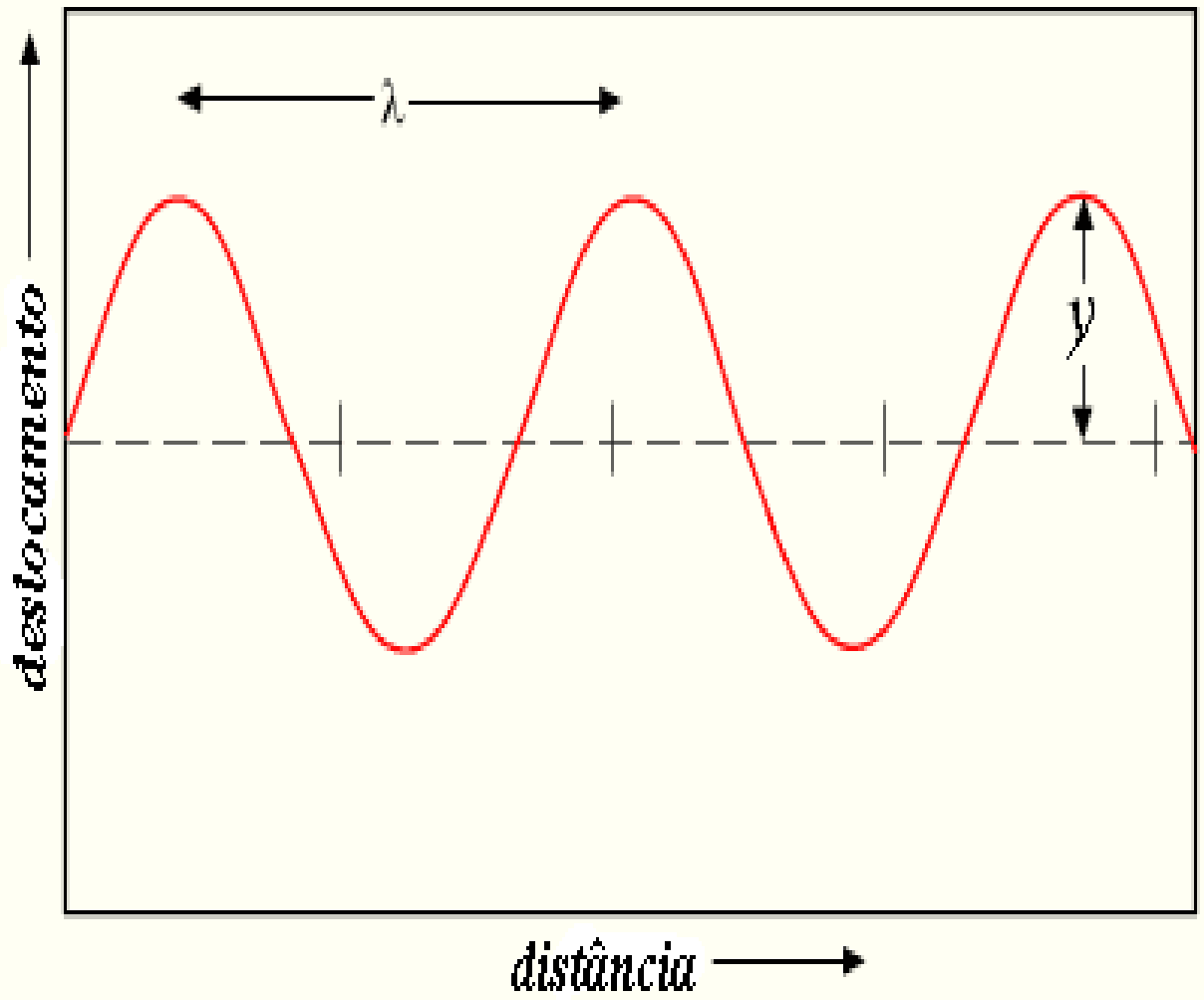
Microrganismos evoluíram vários mecanismos de reparos de DNA para corrigir danos

As 3 maneiras de se medir o comprimento de onda

= LAMBDA



Onda



λ = comprimento de onda

y = amplitude

Controle de microrganismos

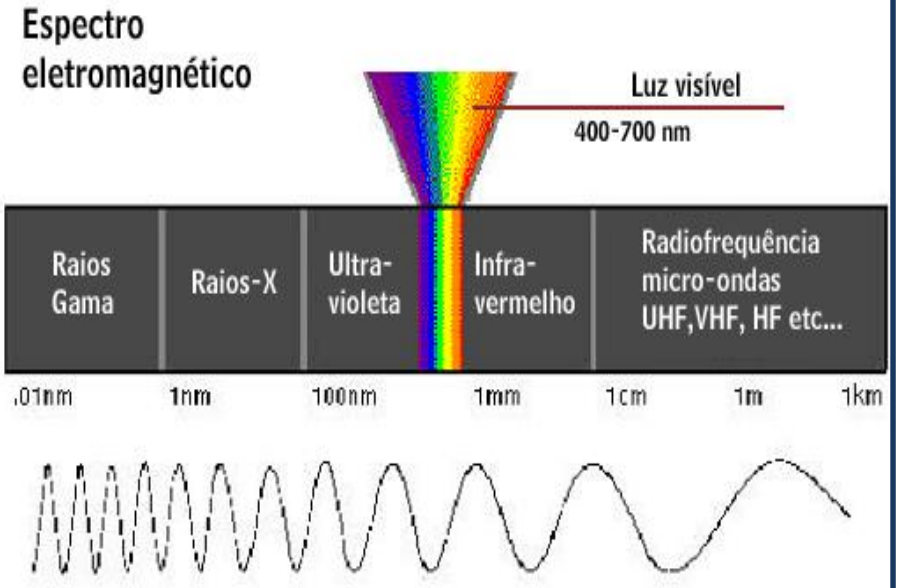
RADIAÇÃO

- Os tipos de radiação que matam bactérias diretamente são todos de comprimento de onda menores do que a luz visível:

Luz ULTRAVIOLETA (10 a 400nm)
Radiação IONIZANTE (até 0,001nm)

↓

Raramente utilizada em laboratórios de microbiologia pela complexidade da técnica, mas apresenta aplicação comercial considerável (alimentos, vidros, plásticos)



- O comprimento de onda UV mais letal é de aproximadamente 265nm, por trazer dano ao DNA que absorve ao máximo nesse comprimento de onda.

- **UVA –** Luz Negra – 315:400 nm
  - **Bronzeado;**
  - **Formação da catarata;**

- **UVB** – Região do eritema – 280:315nm
  - **Região potencialmente carcinogênica;**
  - **Protetores solares;**

- **UVC** – Bactericida e Germicida - < 280 nm
  - **Protegidos pela camada de ozônio;**
  - **Lâmpadas de vidro bloqueiam completamente esses raios.**

Eritema: Coloração avermelhada da pele ocasionada por vasodilatação capilar.

Controle de microrganismos

RADIAÇÃO

- A LUZ UV mata micro-organismos somente em SUPERFÍCIES, não penetrando nem mesmo em vidro.
- RISCO à saúde humana por dano à CÓRNEA.

Câmara de fluxo laminar

Controle de microrganismos

FILTRAÇÃO

- As células microbianas podem ser removidas de líquidos ou gases por filtração.
- É mais demorada e cara, já que um novo filtro deve ser usado a cada vez, comparada a autoclave.
- Então apenas líquidos e soluções sensíveis ao calor são filtrados.
- NÃO remove a maioria dos vírus, mas o processo é adequado para boa parte dos propósitos rotineiros de laboratório.

Controle de microrganismos

FILTRAÇÃO

- Os filtros são chamados de FILTROS DE MEMBRANA, que são folhas de nitrocelulose uniformemente porosa (0,45µm de diâmetro).

- Soluções de vitaminas, antibióticos e outros compostos sensíveis ao calor são normalmente filtrados antes de serem adicionados a um meio.

É UM MÉTODO QUE NÃO ESTERELIZA

Controle de microrganismos

DESSECAÇÃO (secagem)

- Remoção de água → evaporação ou sublimação.
- Evaporação: não é comumente utilizada em laboratório por causar mudanças químicas, porém é amplamente aplicada na indústria.

Diminuição da água

↓

Concentração dos sólidos

Controle de microrganismos

DESSECAÇÃO (secagem)

- Sublimação → conversão direta de um estado sólido para um gasoso (congelamento e após vácuo parcial).

LIOFILIZAÇÃO

- Ex. Preservação de materiais perecíveis como proteínas, produtos que contêm sangue e culturas de referência.

Controle de microrganismos

DESSECAÇÃO

Técnica de conservação a longo prazo.

Liofilização

A técnica se baseia na remoção da água intracelular de materiais biológicos congelados, por sublimação, evitando a formação de cristais de gelo, capazes de provocar danos às estruturas celulares, além da degradação de enzimas presentes no citosol, levando a morte dos agentes.

Basicamente, a liofilização pode ser definida como um processo de desidratação sob condições de vácuo, constituído por três etapas: congelamento, desidratação primária e desidratação secundária.

Liofilização

O congelamento promove a inércia do material a ser liofilizado, gerando uma interrupção das reações químicas e atividades biológicas, sendo por isso uma das fases mais críticas.

Posteriormente, a amostra biológica sofre desidratação por meio de sublimação, seguindo-se com o emprego de temperaturas de secagem, sob pressões reduzidas.

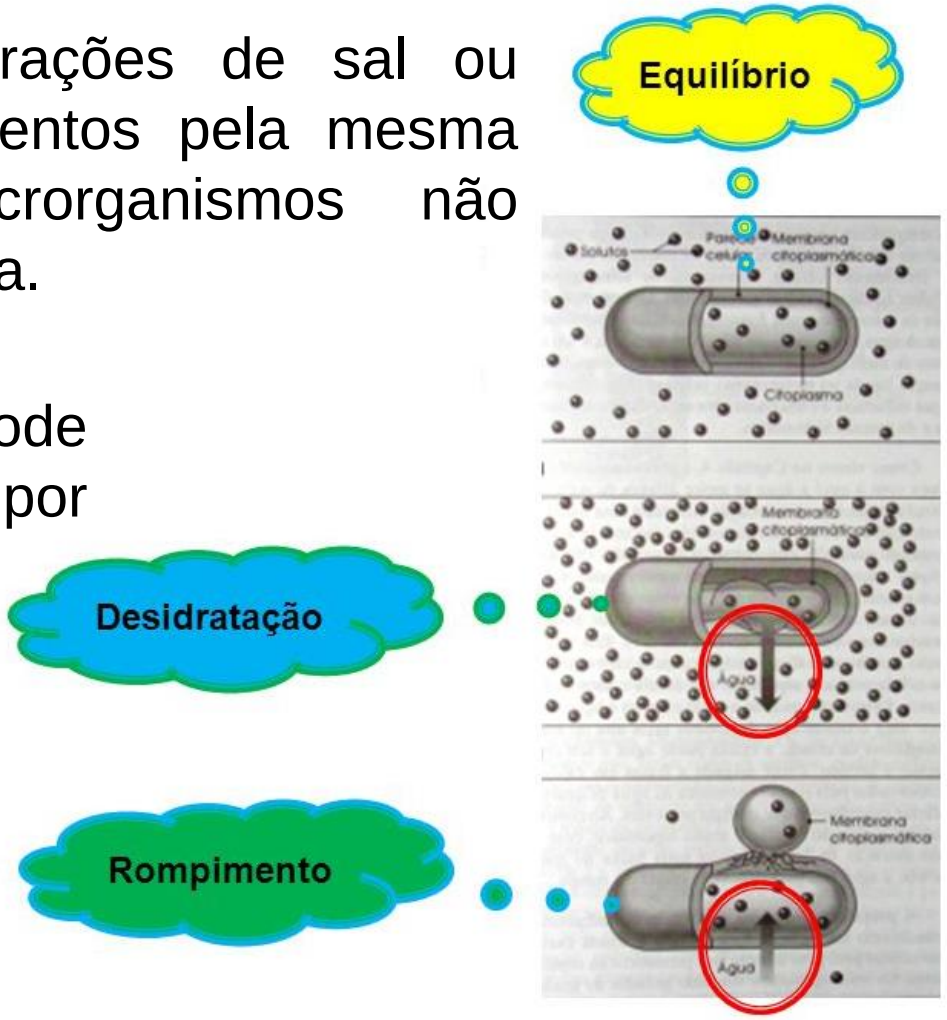
A liofilização é amplamente empregada na manutenção de diferentes microrganismos e é considerada uma técnica de conservação a longo prazo.

Controle de microrganismos

PRESSÃO OSMÓTICA

- São usadas altas concentrações de sal ou açúcar para preservar alimentos pela mesma razão da secagem: microrganismos não conseguem crescer sem água.

- A alta força osmótica pode danificar as células por plasmólise.



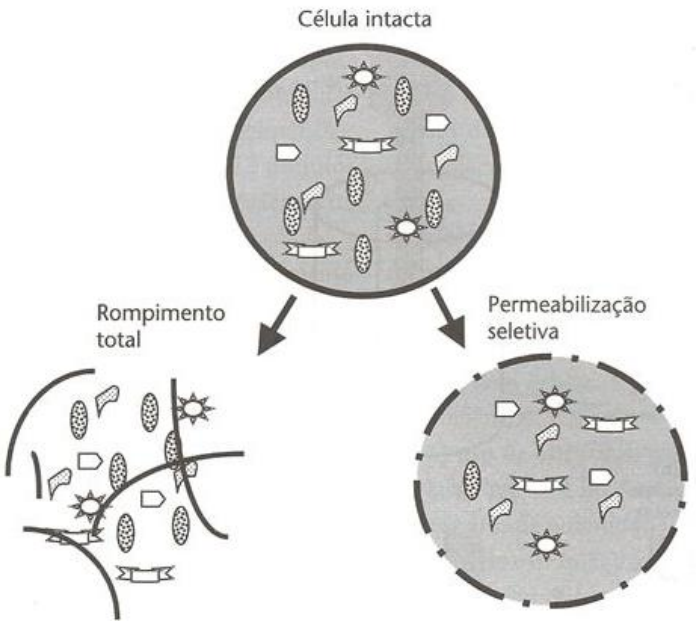
Controle de microrganismos

Método	Mecanismo de ação	Comentários	Uso preferencial
Calor úmido			
Fervura	Desnaturação de proteínas	Mata bactérias, fungos em 15 min. Não é eficaz para todos endósporos.	Processo de desinfecção de larga utilização caseira.
autoclavação	Desnaturação de proteínas	Método eficaz de esterilização.	Meios de cultura, soluções, utensílios e instrumentos que toleram temperatura e pressão.
			cerveja, vinho...
Calor seco			
flambagem	Oxidação de todo material até formar cinzas	Método de esterilização	Alça e fio de platina
fornos	Oxidação de todo material	Método eficaz de esterilização	Vidrarias e outros materiais
Filtração	Remoção mecânica	Separação de bactérias em meios soluções líquidas ou gases	Eliminação total de bactérias.
Radiações			
ionizantes	Destroem DNA, formam radicais superativos	Método eficaz de esterilização, caro.	Usado para esterilização de produtos cirusgicos
Não ionizante	Alteram DNA pela formação de dímeros	Emprego restrito como esterelizante	Lâmpadas germicidas (UV)
Baixas temperaturas			
Refrigeração e congelamento	Interrupção do metabolismo	Efeito microbiostático	Preservação

Controle de microrganismos

PRODUTOS QUÍMICOS

- Halogênios: Cloro e Iodo
- Álcoois: álcool 70%
- Sabões e detergentes: controle mecânico, podem conter antimicrobianos
- Aldeídos: glutaraldeído e formaldeído
- Esterilizantes gasosos: óxido de etileno
- Acido peracético

Ruptura de membrana plasmática

Desnaturação de proteínas