

## **AVALIAÇÃO DE MÉTODOS FÍSICOS NA EFICIÊNCIA DO PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO NO LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA**

CAROLINE SOARES UNTICESKI<sup>1</sup>; MÍRIAN RIBEIRO GALVÃO MACHADO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas, Bacharelado em Química de Alimentos/BQA – caroline.s.u@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos/CCQFA – miriangalvao@gmail.com*

### **1. INTRODUÇÃO**

A higiene e a ordem são elementos decisivos para o bem-estar, segurança e conforto dos profissionais que exercem suas atividades no laboratório, pois a falta de limpeza e organização é responsável por grande parte dos acidentes. Os procedimentos de limpeza exigem cuidados especiais os quais incidem diretamente na menor taxa de contaminação, controle de resíduos laboratoriais e melhor ambiente de trabalho (COUTO, 2011).

Além disso, o ambiente laboratorial é destinado ao estudo experimental, concentrando no mesmo espaço pessoas, equipamentos, livros, vidrarias e outros materiais, sendo necessário um cuidado especial no serviço de limpeza (COUTO, 2011).

O laboratório de Microbiologia de Alimentos está vinculado à área de Alimentos do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), UFPel. Neste espaço são desenvolvidas, prioritariamente, aulas e atividades de ensino de graduação dos Cursos de Química de Alimentos e Tecnologia de Alimentos. Conta com infraestrutura básica para preparo de meios de cultura, manutenção de culturas e análises microbiológicas de matérias primas de origem alimentar, atividades estas realizadas com orientação/auxílio do técnico laboratorista, monitor e professor responsável.

Neste tipo de laboratório é exigido ambiente asséptico, a fim de evitar perda parcial ou total de experimentos, principalmente devido à contaminação cruzada, onde há transferência de micro-organismos de locais, superfícies ou objetos contaminados para aqueles já higienizados (COUTO, 2011).

O controle microbiano pode ser exercido através da limitação do crescimento de micro-organismos, um processo de inibição, ou pela remoção ou morte de todos os organismos vivos e seus vírus, processo chamado esterilização. Apesar de fundamental no preparo de meios de cultura, tal situação nem sempre é alcançada, sendo necessário o emprego de métodos de descontaminação/desinfecção (UFMG, 2015).

Estes métodos são realizados através de processos químicos ou físicos. Os processos físicos compreendem a exposição a agentes físicos como temperatura, pressão e radiação ultravioleta, água fervente ou vapor, enquanto os químicos compreendem a utilização de agentes químicos que matam ou inibem a proliferação de microrganismos em objetos, superfícies ou ambientes, à temperatura ambiente (UFMG, 2015; VERMELHO et al., 2006).

O calor é um dos métodos mais eficientes para controle do crescimento e eliminação dos micro-organismos, sendo seguro, de baixo custo e sem formação de produtos tóxicos. Em temperatura, acima da ideal de crescimento, promove a desnaturação de proteínas estruturais e enzimas ocasionando a perda de

integridade celular e morte. O calor úmido tem maior poder de penetração eliminando as formas vegetativas e seus esporos (VERMELHO et al., 2006).

A radiação ultravioleta trata-se de uma radiação não ionizante, sua ação microbicida é mais eficiente no comprimento de onda de 260nm. A luz ultravioleta é absorvida por muitas substâncias celulares, mas, de modo mais significativo, pelos ácidos nucleicos, onde ocorre o maior dano. Por isso, o mecanismo deste método baseia-se na mutação letal do DNA (VERMELHO et al., 2006; GAVA et al., 2008).

Com base no exposto, analisou-se a eficiência dos métodos de esterilização empregados no laboratório visando o controle de qualidade e segurança das atividades realizadas.

## 2. METODOLOGIA

A avaliação da eficiência foi realizada através da aplicação de métodos físicos como calor e radiação, segundo VERMELHO et al. (2006) com adaptações.

Foram utilizadas placas de petri contendo Agar Eosina azul de metileno (EMB), com crescimento de *E. coli* resultante de análises de alimentos. As colônias foram transferidas para tubos de ensaio, com tubos de duhran invertidos, contendo caldo *Escherichia coli* (EC), incubados a 45°C durante 24h. Após crescimento positivo (turvação e presença de gás) os tubos foram submetidos a diferentes tratamentos:

- tratamento 1, calor úmido e pressão (autoclave) durante 10, 15 e 20min./121°C;
- tratamento 2, calor (banho-maria) por 5 e 10min./100 °C;
- tratamento 3, radiação UV (fluxo laminar) 10 e 20 min., neste caso o conteúdo dos tubos foi dispensado em placas.

Ao final de cada tratamento retirou-se uma alíquota e semeou-se em placas contendo Agar EMB, incubou-se a 37°C por 24h, e observou-se o crescimento. Foram considerados eficientes (positivos) os tratamentos onde houve a inibição dos micro-organismos. Todos os tratamentos foram comparados com um controle (tubo positivo), sem tratamento e com aplicação do procedimento final.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao término do período de incubação obtiveram-se os resultados expressos na tabela 1.

Tabela 1 – Efeito do calor e radiação na eliminação de *E.coli* submetida a autoclave, banho-maria e radiação UV com variação de tempo e temperatura.

Tratamento	Tempo (minutos) positivo/negativo**			
	5	10	15	20
T1(Autoclave)	nr*	positivo	positivo	positivo
T2 (Banho-maria)	positivo	positivo	nr*	nr*
T3 (Radiação UV)	nr *	negativo	nr*	negativo

\*nr= não realizado \*\*positivo= sem crescimento negativo = com crescimento

A autoclave emprega o vapor d'água sob pressão que se produz a temperatura de 121°C, é capaz de eliminar as formas vegetativas e esporuladas de procaríotos e fungos rapidamente (VERMELHO et al., 2006; KALIL; COSTA, 1994). O ar é

removido por vácuo, e quando o vapor entra penetra rapidamente, o que justifica o resultado do tratamento 1.

KALIL & COSTA (1994) destacam que o procedimento pode ser monitorado por fatores biológicos, como esporos bacterianos e determinadas bactérias como *E. coli* e *B. subtilis*. Também ressaltam algumas características do invólucro como permeabilidade ao agente esterilizante, resistência ao calor, à tração e ao manuseio, impermeabilidade a partículas microscópicas e isenção de nutrientes microbianos (amidos) e resíduos tóxicos (corantes e alvejantes).

O tratamento 2 (banho-maria) com 5 e 10 minutos também inibiu o crescimento dos micro-organismos apesar de ser um tratamento mais brando. Segundo VERMELHO et al. (2006) destrói as formas vegetativas e alguns endósporos, porém não é considerado um método de esterilização mas um controle do crescimento.

O tratamento 3 (radiação UV) não foi eficiente, pois apesar da ação microbicida, apresenta baixo poder de penetração, não atravessando sólidos nem líquidos. O seu poder de penetração pode ser menos eficiente devido a presença do ar, seu uso é recomendado apenas em superfícies (UFMG, 2015; VERMELHO et al., 2006; KALIL & COSTA, 1994).

#### 4. CONCLUSÕES

Os tratamentos aplicados variaram a respeito da eficiência, isto ocorreu devido aos diferentes mecanismos de ação de cada um, entretanto a utilização da autoclave permanece como um dos melhores métodos para obtenção de eficiência na limpeza e esterilização de materiais bem como a manutenção da qualidade dos procedimentos no laboratório .

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUTO, H. A. R. **Limpeza nos laboratórios: procedimentos e cuidados especiais**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. 2011. 17 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 85).

GAVA, A. J., SILVA, C. A. B., FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. **Acta Ortop Bras**, v.2, n.4 , p1-4, 1994.

UFMG. **Controle de populações microbianas: eficácia da ação de desinfetantes sobre superfícies inertes**. Acessado em 18 jul. 2015. Online. Disponível em: <http://icb.ufmg.info/mic/diaadia/wp-content/uploads/2015/05/Controle-pop-mic-desinfetantes.pdf>.

VERMELHO, A. B.; PEREIRA, A. F.; COELHO, R. R. R.; SOUTO-PADRÓN, T. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 239p.