

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2021

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Fernando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacl do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Sidney Gonçalves de Lima – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miraniide Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Profª Ma. Adriana Regina Vettorazzi Schmitt – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Me. Carlos Augusto Zilli – Instituto Federal de Santa Catarina
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná
Profª Drª Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa

Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Edson Ribeiro de Britto de Almeida Junior – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará
Prof. Me. Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho – Universidade Federal do Cariri
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFGA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Lilian de Souza – Faculdade de Tecnologia de Itu
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lúvia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Profª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz
Profª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Me. Luiz Renato da Silva Rocha – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos

Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie
Profª Drª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Rafael Cunha Ferro – Universidade Anhembi Morumbi
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Renan Monteiro do Nascimento – Universidade de Brasília
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Profª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces 2

Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F736 O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces 2 / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-5983-135-7
DOI 10.22533/at.ed.357212805

1. Ciências biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.

CDD 570

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

APRESENTAÇÃO

O livro “O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2” é uma obra cujo foco principal está na interrelação das diferentes áreas das Ciências Biológicas e em suas interfaces com outras áreas na produção de conhecimento. O presente volume abordará em seus vinte capítulos o conhecimento interdisciplinar que compõe a grande área de Ciências Biológicas através de artigos científicos originais, pesquisas, relatos de casos e/ou revisões.

Cada um dos estudos selecionados foi desenvolvido em reconhecidas instituições de ensino e pesquisa do país, e aborda as diferentes áreas da Biologia e áreas correlatas, que possuem interface com ela - Parasitologia, Microbiologia, Farmacologia, Zoologia, Botânica, Medicina, Educação em Saúde, Biologia Celular e Molecular, Genética entre outras. É necessário destacar que mais que nunca, biólogos têm estado presentes cada vez mais em áreas de pesquisa antes consideradas específicas de outras profissões. Esta interdisciplinaridade é extremamente importante, pois pesquisas com olhares de diferentes profissionais tendem a ter mais êxito e gerar melhores frutos. Por isto, trabalhos diversos são aqui discutidos com a proposta de ampliar o conhecimento científico e acadêmico, assim como abordar temas atuais e de interesse direto também da comunidade em geral.

Acreditamos que esta obra será importante para a difusão do conhecimento e da ciência e, assim como todas as demais obras da Atena Editora, esta também passará por julgamento de um corpo editorial formado por mestres e doutores. Esperemos que que você faça bom proveito!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ANÁLISE DOS RISCOS DA AUTOMEDICAÇÃO E A PREVALÊNCIA DESSE HÁBITO ENTRE OS ACADÊMICOS DA FACULDADE UNICESUMAR CAMPUS PONTA GROSSA

Ryan da Silva do Prado

DOI 10.22533/at.ed.3572128051

CAPÍTULO 2..... 17

ANÁLISE COMPARATIVA DAS FIBRAS COLÁGENAS E DAS FIBRAS ELÁSTICAS DE CORONÁRIAS E CARÓTIDAS EM PACIENTES AUTOPSIADOS

Luciano Alves Matias da Silveira

Gabriela Ribeiro Juliano

Laura Sanches Aguiar

Guilherme Ribeiro Juliano

Bianca Gonçalves Silva Torquato

Mariana Silva Oliveira

Fernando Pimenta de Paula

Marina Guerra Rotelli

Isadora Ignácio Lourenço

Vicente de Paula Antunes Teixeira

Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

DOI 10.22533/at.ed.3572128052

CAPÍTULO 3..... 43

AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE *Bursaphelenchus cocophilus*

Arinaldo Pereira da Silva

Josineide Rodrigues da Costa

DOI 10.22533/at.ed.3572128053

CAPÍTULO 4..... 49

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA CICATRIZAÇÃO DE PELE DE RATOS WISTAR TRATADOS COM POMADA DE EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE PERESKIA ACULEATA MILLER (ORA – PRO- NÓBIS)

Ana Rosa Crisci

Cauê Aparecido de Jesus Cavé Lima

Rosilene Alves Rodrigues

Vanessa Digilio Vanzo

Jose Norberto Bazon

Wilson Roberto Malfará

Lucila Costa Zini Angelotti

DOI 10.22533/at.ed.3572128054

CAPÍTULO 5..... 62

ASPECTOS BIOLÓGICOS DA VIOLÊNCIA OBSTÉTRICA

Monique Rafaela de Oliveira Silva Lopes

Kátia Zeny Assumpção Pedroso

DOI 10.22533/at.ed.3572128055

CAPÍTULO 6..... 79

***Baccharis milleflora* (LESS.) D.C.: EFEITOS CONTRA FUNGOS OPORTUNISTAS E FATOR DE VIRULÊNCIA**

Ana Lays Braga

Rafael Pereira da Cruz

Joara Nályda Pereira Carneiro

Antonia Thassya Lucas dos Santos

Débora Lima Sales

Victor Juno Alencar Fonseca

Luciene Ferreira de Lima

Henrique Douglas Melo Coutinho

Luiz Everson da Silva

Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga

Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues

DOI 10.22533/at.ed.3572128056

CAPÍTULO 7..... 94

CONTAMINAÇÃO NO CULTIVO CELULAR: BOAS PRÁTICAS NO LABORATÓRIO

Giulia Galani Martha

Susane Lopes

Marcelo Maraschin

DOI 10.22533/at.ed.3572128057

CAPÍTULO 8..... 108

LA VACUNA RECOMBINANTE EG95 EN HOSPEDEROS INTERMEDIARIOS EL LARGO CAMINO RECORRIDO EN LA BÚSQUEDA DE UNA VACUNA, PARA PREVENIR HIDATIDOSIS. DESDE LA INVESTIGACIÓN HASTA SU APLICACIÓN EN PROGRAMAS DE CONTROL. (1927 - 2016)

Jensen Oscar

Gertiser María Laura

DOI 10.22533/at.ed.3572128058

CAPÍTULO 9..... 134

DISPONIBILIDADE DE INFORMAÇÃO ORNITOLÓGICA DAS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DO ESTADO DO PARANÁ: PLANOS DE MANEJO

Adriana Barbosa Bussler

Vagner Cavarzere

DOI 10.22533/at.ed.3572128059

CAPÍTULO 10..... 147

ESTUDO DO FUNGO *Rhizopus stolonifer* CONHECIDO COMO BOLOR PRETO DO PÃO

Laryany Farias Vieira Fontenele

Aliny Lima de Sousa

Luana de Mikelle Rodrigues Pereira

DOI 10.22533/at.ed.35721280510

CAPÍTULO 11..... 155

**O PROFESSOR “IDEAL” NA VISÃO DE ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA:
UM ESTUDO DESCRITIVO**

Edla Helena Salles de Brito
Débora Rosana Alves Braga
Dulce Maria de Lucena Aguiar
Maria Elisa Machado Ferreira Marcelo
Maria Viera de Lima Saintrain

DOI 10.22533/at.ed.35721280511

CAPÍTULO 12..... 163

**NODULAÇÃO EM FEIJÃO GUANDU (*Cajanus cajan* L.) EM RESPOSTA À APLICAÇÃO
DE EXTRATO DE NÓDULOS**

Simone Yasuda Fernandes
Glaucia Almeida de Moraes
Lucas Ortega Martins
Adriana da Silva Ribeiro
Vinicius Nunes Gomes
Daniela Fialho Duarte
Débora de Araújo

DOI 10.22533/at.ed.35721280512

CAPÍTULO 13..... 175

**OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA A EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO EM
Physalis L.**

André Pinto Lima
Hortência Kardec da Silva
Rafael Cruz Cordeiro
Maryelle Vanilla de Abreu Cerqueira
Jéssica Barros Andrade
Aparecida Gomes Feitosa
Joseane Inácio da Silva Moraes

DOI 10.22533/at.ed.35721280513

CAPÍTULO 14..... 183

**PERSPECTIVAS DEL TRATAMIENTO MÉDICO DE LA ECHINOCOCCOSIS
QUÍSTICA. GENERACIÓN DE EVIDENCIA CLÍNICA EN SU UTILIZACIÓN PRE Y
POST QUIRÚRGICA**

Walner Daniel da Rosa Alvarez
Marcela Risso
Carlos Russi
Elisa Figueredo
Ana María Acuña

DOI 10.22533/at.ed.35721280514

CAPÍTULO 15..... 194

PARÂMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS PARA ANÁLISE DE

ÁGUA POTÁVEL

Junior Rodoi da Silva
Victor Abdiel de Souza de Brito
Arielly Neri de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.35721280515

CAPÍTULO 16.....203

PROJETO DE EXTENSÃO CIENTISTA NA ESCOLA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Tatiane do Nascimento Lima
Edihanne Gamarra Arguelho
Rogério Rodrigues Faria

DOI 10.22533/at.ed.35721280516

CAPÍTULO 17.....214

REPROGRAMAÇÕES METABÓLICAS EM MELANOMAS RESISTENTES AO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO

Camila Kehl Dias
Ivi Juliana Bristot
Fábio Klamt

DOI 10.22533/at.ed.35721280517

CAPÍTULO 18.....229

RECURSOS AROMÁTICOS DA AMAZÔNIA: OBTENÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E APLICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Edilene Carvalho Gomes Ribeiro
Denise Fernandes Coutinho

DOI 10.22533/at.ed.35721280518

CAPÍTULO 19.....245

TECNOLOGIA DO DNA: CLONAGEM DE DNA EM CÉLULAS VIVAS E PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Claudio Fernando Graciano Martins

DOI 10.22533/at.ed.35721280519

CAPÍTULO 20.....255

TESTES DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA ADAPTADOS PARA ÓLEOS ESSENCIAIS

Cristiane Mengue Feniman Moritz
Carolina Melchior Pereira
Nathália Righi Pessôa da Silva
Larissa Franciscatti Hoffmann
Adryelen Cassiano Martins
Giovanna Maísa Macanhan
Milene Ribeiro da Silva
Daniella Londero Silva Batisti
Lidaiane Mariáh Silva dos Santos Franciscato

DOI 10.22533/at.ed.35721280520

SOBRE A ORGANIZADORA.....	268
ÍNDICE REMISSIVO.....	269

CAPÍTULO 7

CONTAMINAÇÃO NO CULTIVO CELULAR: BOAS PRÁTICAS NO LABORATÓRIO

Data de aceite: 26/05/2021

Data de submissão: 15/03/2021

Giulia Galani Martha

Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis, Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/2088999381986220>

Susane Lopes

Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis, Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/0622601144873237>

Marcelo Maraschin

Departamento de Fitotecnia
Florianópolis, Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/9590623317873900>

RESUMO: A contaminação celular é um problema sério, que pode ser recorrente nos laboratórios, com fontes de contaminantes variadas. Sendo assim, é importante garantir a implementação de protocolos básicos de detecção, prevenção e tratamento do contaminante afim de evitar diversos problemas, i.e., recursos financeiros, tempo de trabalho e alterações morfológicas e bioquímicas das células, conduzindo à resultados equivocados. Posto isto, o presente trabalho teve como objetivo a revisão literária de artigos abordando a prevenção, detecção e tratamento de contaminantes de culturas de células.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminação celular, detecção, prevenção, tratamento.

CONTAMINATION IN CELL CULTURE: GOOD PRACTICES IN THE LABORATORY

ABSTRACT: Cellular contamination is a serious problem, which can be recurrent in laboratories, with varied sources of contaminants. Therefore, it is important to ensure the implementation of basic protocols for the detection, prevention and elimination of the contaminant in order to avoid several problems, i.e., from financial resources, working time to the morphological and biochemical alterations of the cells, leading to erroneous results. That said, the present work aimed at the literary review of articles addressing the prevention, detection and treatment of contaminants in cell culture.

KEYWORDS: Contamination cell, detection, prevention, treatment.

1 | INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da cultura celular como aliada de diversas pesquisas, o principal e maior problema encontrado por todos os pesquisadores é a contaminação celular. A contaminação pode atingir a cultura celular como uma substância química, física ou biológica (LINCOLN; G.GABRIDGE, 1998) e estender-se por um longo período sem apresentar danos aparentes à célula (DREXLER; UPHOFF, 2002).

Para evitar qualquer tipo de contaminação, protocolos básicos de limpeza e biossegurança devem ser adotados. Algumas das maiores contribuições para protocolos são

as técnicas de assepsia, conhecimento da sua cultura celular - para identificar facilmente qualquer mudança comportamental - e cuidados com materiais utilizados (STACEY, 2011).

Além destes protocolos básicos, a criação de legislações e o cumprimento de portarias tornam-se extremamente necessários para garantir com eficiência a biossegurança, auxiliando na conscientização do profissional e assim, prevenindo, minimizando e eliminando riscos para a sua saúde e meio ambiente (ZOCHIO, 2009).

Entretanto, mesmo com a adoção de protocolos para evitar o desenvolvimento das contaminações, ocasionalmente, elas podem ocorrer e causar problemas que podem ser divididos em três classes: pequenos aborrecimentos, onde algumas placas de cultivo são perdidas; problemas sérios, quando experimentos ou culturas inteiras são perdidos; e grandes catástrofes, que invalidam um trabalho inteiro (RYAN, 1994). Além disso, em casos mais graves, pode resultar em mudanças nas características celulares, como crescimento e morfologia (BATES; WERNERSPACH, 2011). Com isso, torna-se necessário a identificação do mesmo, além de tratamentos celulares e no ambiente para garantir a eliminação do agente contaminante.

Assim, o objetivo do presente trabalho é considerar os diversos tipos de contaminações em culturas celulares, bem como a forma como agem, suas principais consequências e como tratá-las. Adicionalmente, são elencados protocolos básicos e portaria como ferramentas à minimizar contaminações em laboratórios de cultivo celular.

2 | METODOLOGIA

O presente trabalho constitui-se em uma revisão de literatura com abordagem qualitativa. Realizou-se a pesquisa bibliográfica através de artigos científicos publicados desde 1973 até os dias atuais, encontrados nos portais eletrônicos da SCIELO e Periódico CAPES. Para a pesquisa, foram utilizados as seguintes palavras-chave: *contamination of cell culture, asepsis, biosafety, sterilization methods, cell culture protocol*.

Dos artigos encontrados foram selecionados aqueles que citam pesquisas com diversos tipos de contaminantes de cultura celular ou biossegurança para combater e prevenir as contaminações. Neles, os autores empregaram métodos de investigação *in vitro* de diversos tipos celulares para analisar a incidência de contaminação.

3 | CONTAMINAÇÃO

A contaminação celular é um dos problemas mais comuns em laboratórios de cultivo *in vitro* e pode ser definida como um elemento indesejável na cultura celular, tendo como um dos principais problemas seu potencial efeito adverso no sistema celular. A contaminação pode ser dividida de duas maneiras: contaminação biológica e contaminação química (CHEPRASOV, 2018).

Vários problemas podem ser identificados quando ocorre contaminação celular,

incluindo experimento e tempo perdidos. Além disso, em casos mais graves, pode resultar na mudança das características celulares, como crescimento e morfologia (RYAN, 1994).

3.1 Detecção

3.1.1 Tipos de contaminação

3.1.1.1. Contaminação biológica

Contaminações biológicas podem ser divididas em dois grupos baseando-se na dificuldade de detecção: fácil detecção (bactérias, fungos e leveduras) e difícil detecção (vírus, protozoários, insetos e micoplasmas) (RYAN, 1994).

a) Fácil detecção

As **bactérias** são microrganismos unicelulares com micrômetros de diâmetro e diversas variações morfológicas entre si. Por ser onipresente e possuir rápida taxa de crescimento, são os contaminantes mais comuns encontrados e demoram apenas alguns dias para serem detectados por inspeção visual (RYAN, 1994; THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020). As culturas infectadas por bactérias ficam turvas e possuem queda repentina do pH do meio de cultura, além de resultar em morte celular (BATES; WERNERSPACH, 2011).

A figura 1 mostra células da linhagem 293 (rim embrionário humano) aderentes e contaminadas com *E. coli*. Os espaços entre as células mostram pequenos grânulos cintilantes sob microscopia de fase, mas as bactérias individuais não são facilmente distinguíveis (painel A). Uma ampliação adicional da área delimitada pelo quadrado preto mostra as células individuais de *E. coli* (B), que geralmente têm formato de bastonete e medem cerca de $2\mu\text{m}$ de comprimento e $0,5\mu\text{m}$ de diâmetro. Cada lado do quadrado preto no painel A é equiavalente a $100\mu\text{m}$.

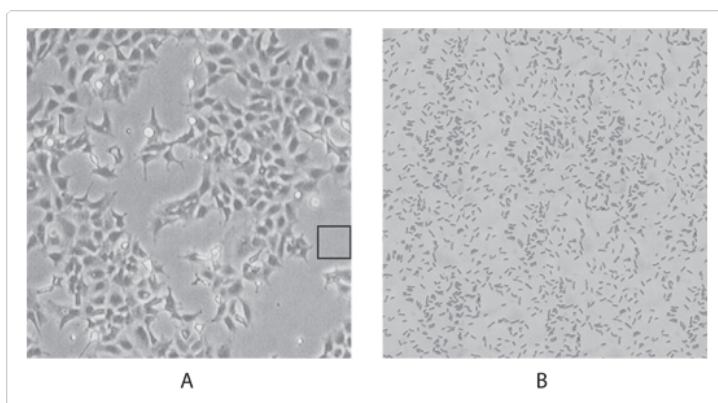


Figura 1: **Contaminação por bactéria.** Imagem de contraste de fase simulada em células da linhagem 293 (rim embrionário humano) contaminadas por bactéria *E. coli* (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020).

As **leveduras** são organismos unicelulares classificados no reino Fungi. Comparando com a contaminação por bactérias, a contaminação por leveduras torna a cultura celular turva conforme a mesma se espalha pelo meio de cultura. O pH do meio é estável inicialmente, porém ao contaminar mais rapidamente, o mesmo começa a se elevar (PEREIRA, J., MATTOS, M., FORTES, G., 2003). No microscópio é possível visualizar partículas ovais ou espirais (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020), como demonstrado na figura 2:

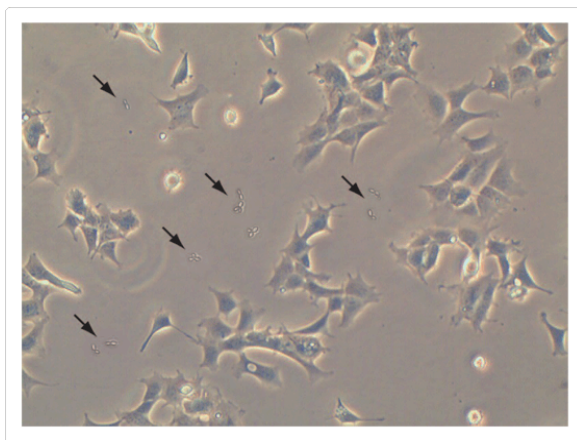


Figura 2: **Contaminação por leveduras.** Imagem de contraste de fase simulada em células da linhagem 293 (rim embrionário humano) cultura aderente contaminada com levedura. As células de leveduras contaminantes aparecem como partículas ovais, germinando partículas menores à medida que se replicam (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020).

Os **fungos** são microrganismos eucarióticos que crescem em hifas (filamentos multicelulares). Com uma contaminação parecida com as leveduras, o pH do meio de cultura continua o mesmo inicialmente e depois há uma elevação rápida do mesmo. Na microscopia, é possível observar os micélios do fungo como filamentos finos ou os esporos aglomerados (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020). A figura 3 mostra dois tipos de fungos que podem ser encontrados em cultivos celulares.

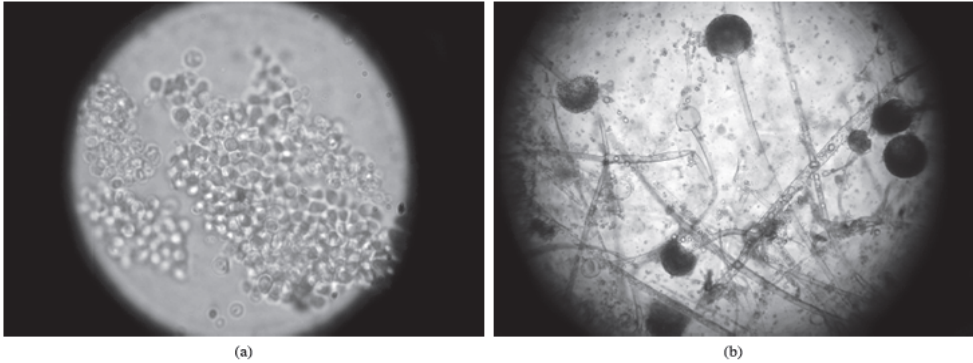


Figura 3: **Contaminação por fungos.** Imagem de contraste de fase do fungo *Rhodotorula* sp. (a) e *Mucor* sp. (b). Material coletado de PVC em aterros sanitários (GRISA, Ana M. C. et al., 2011).

b) Difícil detecção

Os **vírus** são agentes infecciosos que se utilizam das células hospedeiras para sua propagação. Por possuir um tamanho extremamente reduzido, sua detecção em cultura torna-se difícil de identificar e remover (FOGH, 1971). O uso de culturas celulares contaminadas com vírus podem significar riscos à saúde das pessoas do laboratório. A contaminação pode ser detectada por microscopia eletrônica, imunocoloração com anticorpos, ou ensaios ELISA ou PCR (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020). Apesar de ser uma contaminação de difícil controle, os vírus possuem rigorosos requisitos para o mecanismo celular de sua célula hospedeira, o que limita sua capacidade de infectar culturas celulares de outras espécies (RYAN, 1994).

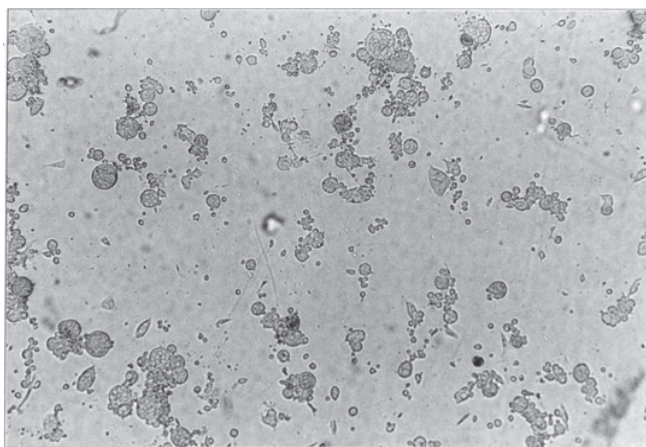


Figura 4: **Contaminação por vírus.** Imagem do efeito citopático causado pelo VHS tipo 2 em linhagem contínua de rim de coelho (CRUZ, et al., 1992).

Os **protozoários** de vida livre ou parasitas podem ser identificados como contaminantes de cultura celular. Podem formar esporos que contaminam pessoas ou equipamentos no laboratório, chegando até a cultura, resultando num efeito citopático parecido com os vírus, podendo ocasionar destruição total da cultura celular em poucos dias. Por apresentarem crescimento lento e morfologia parecida com células de cultura, torna-se difícil sua detecção se não houverem suspeitas prévias (RYAN, 1994).

Insetos e aranhas são frequentemente encontrados em áreas do laboratório, podendo causar contaminações principalmente em salas quentes, ou ainda serem importantes fontes de contaminação microbiana (RYAN, 1994).

O **micoplasma** são bactérias que não possuem parede celular e são consideradas o menor organismo auto-replicante. Mesmo em condições ideais, eles crescem muito lentamente. O tempo entre uma geração e outra pode variar de 1 até 9 h e, até formar uma colônia visível, pode demorar uma semana (DREXLER; UPHOFF, 2002). Por conta do seu tamanho reduzido, menor que um micrômetro, sua detecção é extremamente difícil até causar grande deterioração da cultura celular. Alguns micoplasmas podem causar alteração na morfologia celular sem induzi-la a apoptose (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020). Apenas testes específicos podem confirmar a presença deste contaminante na cultura celular, como, i.e., cultivo direto, a utilização de precursores radioativos pelas células infectadas, os testes enzimáticos, a coloração com anticorpos fluorescentes ou com corantes citoquímicos fluorescentes (MIYAKI, 1989).

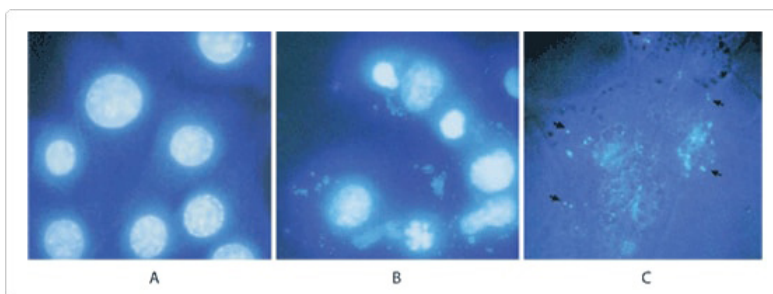


Figura 3: **Contaminação por micoplasma.** A). As culturas foram testadas usando o Kit de Detecção de Mycoplasma MycoFluor™, seguindo os protocolos do kit. Em células fixas, o reagente MycoFluor™ tem acesso aos núcleos celulares, que são intensamente corados com reagente, mas a ausência de objetos extranucleares fluorescentes indica que a cultura está livre de contaminação por micoplasma (painel A). Em células fixas infectadas com micoplasma, o reagente MycoFluor™ mancha os núcleos e o micoplasma, mas a intensa fluorescência relativa dos núcleos obscurece o micoplasma nos núcleos ou próximo a eles. No entanto, o micoplasma separado dos núcleos brilhantes é facilmente visível (painel B). Nas células vivas, o reagente MycoFluor™ não tem acesso aos núcleos, mas mancha rapidamente o micoplasma associado ao exterior das células (painel C). As imagens foram obtidas usando excitação de 365nm e uma lente objetiva 100/ 1,3 Plan Neofluar® (Zeiss) acoplada a um filtro passa-banda de 450 ± 30nm (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2020).

3.1.1.2. Contaminação química

A contaminação química trata-se de qualquer substância não-viva que possui efeitos indesejáveis na cultura celular. Qualquer reagente, mesmo os utilizados em experimentos, podem ser contaminantes, dependendo da quantidade encontrada no meio. As principais fontes de contaminação química são: meio de cultura, água, endotoxinas, alguns tipos de soro, radicais livres, metais pesados, recipientes e tubos de armazenamento de plástico, e resquícios de produtos de limpeza (CHEPRASOV, 2018).

Ao longo dos experimentos, a **água** é utilizada de diversas maneiras: durante a produção de meio de cultura, para limpar os recipientes, entre outros. Porém, muitas vezes ela é a fonte de contaminação química. Apesar dos laboratórios purificarem a água através de destiladores, osmose reversa, troca iônica e ultrafiltração, é necessário garantir que estes sistemas mantenham-se em perfeitas condições, garantindo a qualidade da água. Entretanto, águas altamente purificadas podem ocasionar na lixiviação de íons metálicos tóxicos de vidros ou recipientes de plástico, resultando em contaminação do meio de cultura (RYAN, 1994).

As **endotoxinas** são frequentemente encontradas na água e outros aditivos do meio de cultura. Estudos apontam que este contaminante pode afetar o crescimento e desempenho celular, ocasionando em um alto desvio em experimentos (RYAN, 1994). Anteriormente, soros eram uma importante fonte deste contaminante. Após diversos estudos, os fabricantes conseguiram reduzir sua presença no produto manuseando os produtos sob condições assépticas. Sistemas de água mantidos de maneira inadequada apresentam níveis significativos de bactérias produtoras de endotoxinas (CORNING LIFE SCIENCES, 2017).

Os **soros** são um contaminante de grande potencial, tanto biológico, quanto químico. Por serem coletados de animais individuais e com controle de qualidade diferente entre cada fornecedor, existe uma variação incontrolável de hormônios, enzimas e ácidos graxos neste produto. Por conta deste fatores, há uma grande chance dele vir com variações que intervirão no resultado final do experimento (LINCOLN; G.GABRIDGE, 1998).

Grande parte das contaminações ocorrem através do **meio de cultura**, que provém da matéria-prima utilizada para fazê-lo e de reagentes, aditivos e suplementos (LINCOLN; G.GABRIDGE, 1998). Todos os produtos utilizado na cultura de células devem passar por um controle de qualidade com os seguintes indicadores: teste de esterilidade, avaliação do pH, características físicas (ausência de bolhas, artefatos, água de condensação, turbidez, precipitados, espessura, consistência e coloração do meio) e teste de viabilidade ou inibição do crescimento microbiano (MANRIQUE; PAIVA; LIMA, 2016).

Além disso, os **radicais livres** são gerados no meio de cultura pela fotoativação de triptofano, riboflavina ou HEPES (agente tamponador de ácido sulfônico zwitteriônico) expostos à luz fluorescente. Esses componentes produzem peróxido de hidrogênio e

radicais livres que são tóxicos para as células. A contaminação com radicais livres torna-se perigosa quando a exposição é constante e não apenas para a manutenção da cultura celular, ou seja, quando a mesma é guardada em locais de constante iluminação (RYAN, 1994).

Adicionalmente, **meios armazenados** em garrafas de vidro ou plástico que contenham metais pesados ou compostos orgânicos tornaram-se outra fonte de contaminação. Outro problema em meios de armazenamento é a lavagem inadequada de recipientes, deixando resíduos de produtos químicos utilizados para a desinfecção. Os contaminantes podem ser absorvidos pela célula ou meio de cultura durante o contato (CORNING LIFE SCIENCES, 2017). Fatores como dimensão física e *design* do material também podem influenciar na contaminação, podendo resultar em uma troca de gás e/ou umidade, alterando o pH, saturação e esterilidade da cultura celular (LINCOLN; G.GABRIDGE, 1998).

Apesar de ser considerada uma fonte de contaminação biológica, a **estufa incubadora** também é responsável por diversas contaminações químicas. As misturas gasosas que geralmente possuem dióxido de carbono para ajudar na regulação do pH do meio podem conter impurezas tóxicas, principalmente óleos ou outros tipos de gases resultante da reutilização do cilindro de armazenamento. Além disso, a limpeza inadequada da incubadora pode resultar em resquícios de produtos que contaminarão o meio de cultura, interferindo na manutenção adequada da cultura celular (RYAN, 1994).

3.2 Prevenção

Algumas recomendações são feitas para reduzir a probabilidade de contaminação na cultura celular. A falta de procedimentos básicos como limpeza padrão e outros métodos de esterilização resultam em grandes problemas a longo prazo. Para a prevenção, é necessário adotar alguns protocolos que ajudarão a reduzir os contaminantes (RYAN, 1994), tais como:

- Lavar as mãos antes de colocar as luvas;
- O uso de luva e sua troca frequente;
- Fazer a assepsia dos materiais com álcool 70%, bem como das mãos (antes e após colocar as luvas) sempre que necessário;
- Utilize pró-pés;
- Use um jaleco limpo e exclusivo para a área da cultura;
- Usar frascos na cultura celular com tampa ventilada, pois a presença da membrana filtrante permitirá trocas gasosas estéreis;
- Evitar vestígios de meio no pescoço dos frascos utilizados, que acarretará em um meio de entrada para os microrganismos. Caso ocorra o vazamento, limpar com gaze e álcool;

- Quando houver transporte das placas de cultura, fazê-la em caixas ou bandejas para minimizar o contato com contaminantes do ar;
- Não utilizar a cabine de fluxo laminar para armazenamento;
- Não faça a pipetagem com a boca, pois além do grande risco biológico para a pessoa, resulta no contato direto com uma fonte de microrganismos;
- Trabalhe com apenas uma linhagem celular por vez na cabine de fluxo laminar e use garrafas de meio e outros reagentes separado, evitando uma possível contaminação cruzada;
- Limpe frequentemente o banho de água utilizado para aquecer meio e outras soluções. Além disso, é necessário secar o frasco aquecido antes de colocá-lo na cabine de fluxo laminar e borrifar álcool 70% para desinfecção;
- Use pipetas com filtro;
- Fracione soluções estéreis, como tripsina e antibióticos, o que reduzirá a probabilidade de contaminação cada vez que utilizar o frasco;
- Deixe a luz UV ligada por pelo menos 15 minutos antes de cada trabalho e, se possível, deixe o exaustor da cabine do fluxo ligado durante a semana de trabalho;
- Limpe a superfície de trabalho com álcool 70% antes e depois de cada uso e, caso utilize mais de uma linhagem celular, limpar entre elas;
- Não use queimadores Bunsen dentro de exaustores de fluxo laminar. Além de desnecessário, poderá causar danificação do filtro HEPA;
- Mantenha a porta fechada durante o trabalho;
- Minimizar o tráfego de pessoas durante o trabalho;
- Reduza a quantidade de partículas e aerossóis no laboratório;
- Limpe periodicamente a estufa incubadora;
- Descarte os resíduos com segurança. Recomenda-se autoclavar qualquer resíduo que tenha entrado em contato com células;
- Limpe serpentinas de refrigeradores. Elas são uma das principais fontes de contaminantes no ar;
- Tenha em seu laboratório um programa de manejo de pragas, como ratos e baratas (CORNING LIFE SCIENCES, 2017);
- O meio de cultura deve ser preparado com produtos químicos puros e com classificação P.A (para análise), se disponível (STREET, 1973);

- Uma ante sala mostra-se extremamente eficaz para evitar a entrada de microrganismos contaminantes na sala de cultura. Ela servirá para os pesquisadores fazerem sua higienização e a dos produtos antes da entrada na sala principal, criando uma barreira para os contaminantes.

Além disso, métodos de esterilização e assepsia deverão ser implementados, assim como uma limpeza padrão do laboratório.

3.2.1 Esterilização

A esterilização é a eliminação total de qualquer tipo de organismos vivos, patogênico ou não, em um objeto inanimado. Ela poderá ser feita a partir de métodos físicos, como calor e radiação, ou químicos, sendo líquido ou gasoso (UFRGS, 2020).

A sensibilidade dos organismos ao **calor** pode variar de acordo com alguns fatores, como pH, composição e quantidade de água do meio, capacidade de formação de esporos e variação individual de resistência (MORIYA, T; MÓDENA, JLP; 2008).

As **estufas ou fornos** possuem o menor poder de penetração, sendo necessário utilizar tempos e temperaturas maiores. Utiliza-se temperaturas constantes de 160 a 180 °C durante 30 a 120 min (UFRGS, 2020; ESCOLA DE QUÍMICA, s.d. Adicionalmente, são usadas principalmente para esterilizar materiais secos, como vidrarias (MORIYA, T; MÓDENA, JLP; 2008).

Já na esterilização feita com o **calor úmido**, a utilização de uma temperatura elevada com a umidade resulta em uma maior efetividade para destruir microrganismos, ocorrendo a desnaturação de proteínas e a alteração de carboidratos. Pode ser feita a partir da autoclave e ebulição (fervura a 100 °C durante 15 min) (ESCOLA DE QUÍMICA, s.d.).

A **autoclave** utiliza o calor na forma de vapor da água sob pressão (ESCOLA DE QUÍMICA, s.d.). Ocorre a difusão da água dentro da membrana celular, hidratando o protoplasma e coagulando-o sob a ação do calor. É um método efetivo e causa poucos danos ao instrumento. Geralmente utilizado para esterilização de meios de cultura ou vidrarias e ponteiros. Acontece em uma temperatura média de 121 °C durante 15 min (UFRGS, 2020).

No caso de esterilização com agentes químicos, estabeleceu-se os seguintes princípios ativos para desinfetantes através da Portaria 15/88 do Ministério da Saúde:

- Aldeídos/Glutaraldeído: possui atividade bactericida, viruscida, fungicida e esporicida. Este desinfetante é indicado em casos de alto nível em instrumentos termossensíveis e pode ser utilizado como esterilizante. É tóxico e deverá ser usado com EPI (equipamento de proteção individual);
- Quaternário de Amônio: indicado apenas para desinfecção de superfícies;
- Compostos orgânicos liberadores de cloro ativo: produzidos em forma de pó, possui maior atividade microbiana, pH mais baixo, maior estabilidade e ação

corrosiva e tóxica mais baixas se comparados ao hipoclorito;

- Compostos inorgânicos liberadores de cloro ativo:
- Hipoclorito de sódio/lítio/cálcio: instável, termossensível, fotossensível e sofre inativação rapidamente quando em contato com compostos orgânicos. Não pode ser utilizado em materiais metálicos por ser altamente corrosivo;
- Álcool: desnaturam a proteína do microrganismo. É bactericida, viruscida, fungicida e tuberculicida, não possuindo potencial de destruição esporicida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

3.3 Tratamento

Existem quatro principais tipos de tratamento para contaminações celulares: tratamento físico, químico, imunológico e quimioterapêutico. A erradicação total da contaminação geralmente leva tempo e pode ser mal sucedida, além de resultar em infecções secundárias para outras culturas celulares. Recomenda-se utilizar métodos baratos, fáceis, eficientes e confiáveis para que não haja perda das características individuais. No entanto, ainda não existe um método ideal e totalmente eficaz (DREXLER; UPHOFF, 2002).

Tratamentos físicos e químicos envolvem principalmente a esterilização do ambiente e de equipamentos por diversos métodos, afim de eliminar novas fontes de contágio, conforme supracitado como formas de prevenção (DREXLER, UPHOFF, 2002). Para a desinfecção das mãos são utilizadas soluções antissépticas com detergentes para a degermação da pele (remoção das impurezas). Para a assepsia total das mãos, a limpeza é finalizada com álcool iodado ou etílico (MORIYA, T; MÓDENA, JLP; 2008). É necessário a limpeza correta nas duas etapas (com detergentes e álcool), já que na pele são encontrados dois tipos de bactérias: transitórias (removidas mecanicamente na degermação) e residentes (população estável que é removida pelas soluções antissépticas) (UFRGS, 2020).

Os equipamentos de proteção individual (EPI) servem para proteger do contato com agentes infecciosos ou substâncias tóxicas, além de prevenir contaminantes em experimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999). Qualquer manipulação com amostras biológicas ou químicas podem resultar na entrada de partículas através das vias aéreas, causando problemas de saúde. O uso do EPI é obrigatório e seu uso indevido pode provocar acidentes (ZOCHIO, L., 2009). Os equipamentos de proteção individual considerados essenciais são: jalecos, luvas, máscaras, óculos e protetores faciais. É importante lembrar que os EPIs deverão ser retirados ao sair do laboratório, evitando a disseminação de agentes biológicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999). O nível de segurança II é adequado para qualquer trabalho com sangue humano, líquidos corporais, tecidos ou linhas celulares em geral (SPLABOR, 2020). Já os equipamentos de proteção coletiva/cabines de segurança biológica (EPCs ou CSB) serão utilizados para proteger o profissional e o ambiente laboratorial (ZOCHIO, L., 2009). A cabine de segurança biológica proporciona a

contenção de borrifos ou aerossóis infecciosos. Ela pode ser classificada de acordo com sua segurança biológica (classes I, II e III) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Para a descontaminação total do laboratório é importante garantir a esterilização de todos os equipamentos, utilizando EPIs e EPCs para evitar novos contágios (ZOCHIO, L, 2009). O cuidado e a assepsia correta de todos os equipamentos com álcool 70% e cloro, o descongelamento de novas células, a verificação da qualidade de todo e qualquer material usado são cruciais para garantir a eliminação total do contaminante. Além disso, a adoção de novos protocolos podem ajudar na erradicação e prevenção, como a utilização de pro-pés, manutenção e limpeza frequente dos equipamentos, controle do meio utilizado, garantindo um meio sempre novo e sem fontes de contaminação. A metodologia de fumigação do ambiente também é recorrentemente utilizada, principalmente quando a origem da contaminação presente é desconhecida. A técnica em questão consiste no uso de compostos químicos voláteis no local, como o formaldeído, por um período suficiente para volatilização do volume total (BQA, 2019).

Outros tratamentos são utilizados conforme a identificação do contaminante. Para o controle de micoplasmas, as culturas frequentemente são tratadas com antibiótico BM-Cyclin (tiamulin-hydrogenfumarat and Minocyclinhydrochloride) (SIGMA, 2020), que possui *tiamulin* e *minocycline*, dois antibióticos que previnem a síntese proteica (LOPES et al., 2020). Porém, apesar de antibiótico ser um tratamento extremamente utilizado para o combate aos micoplasmas e outros tipos de contaminações, este tratamento não elimina todos os organismos, alguns apenas suprimem ou diminuem seu metabolismo até acabar com mudanças grotescas na cultura celular, mas não interrompendo mudanças bioquímicas e antigênicas (FOGH, 1973).

Para a descontaminação de culturas celulares com fungos ou bactérias, é recorrentemente utilizado antimicrobianos. Caso a contaminação fúngica mostre-se grave, recomenda-se o uso de anfotericina B junto ou separadamente da nistatina. Quando se trata de uma contaminação bacteriana grave, existe uma grande variedade de antimicrobianos, sendo necessário a identificação do Gram bacteriano para a escolha. Para Grams negativos por exemplo, a amicacina, estreptomomicina, gentamicina e tetraciclina são recomendados. Já para Gram positivo, o uso de penicilina, clindamicina e eritromicina são frequentes (HARRISON, RAE, 1997; LAMBERT, 1998).

4 | CONCLUSÃO

A contaminação celular é um problema sério e recorrente em laboratórios. A identificação e detecção da fonte contaminante em um cultivo celular são cruciais para o tratamento rápido e preciso. Além disso, a implementação de protocolos básicos é necessária e fundamental para prevenir e/ou minimizar os riscos de contaminações e, caso esta condição de se estabeleça, possam ser tomadas providências instantâneas e

articuladas afim de evitar situações críticas que afetem as características metabólicas da cultura celular que resultam, comumente, no banimento de toda a linhagem contaminada.

REFERÊNCIAS

BATES, Mary Kay; WERNERSPACH, Douglas. **Cell Culture Contamination: understanding the causes and managing the risks: Understanding the Causes and Managing the Risks. Lab Manager**, v. 6, n. 4, p. 1-4, maio 2011.

BQA, CCB **Regulamento e Normas Gerais de Uso da Sala de Cultura da Neuroquímica**, 2019. Disponível em < <http://saladeculturabqa.paginas.ufsc.br/files/2019/09/REGULAMENTO-E-Normas-Generais-de-Uso-da-Sala-de-Cultura-213C-atualizada-em-09-09-2019.docx>>. Acesso em 13 de Agosto de 2020.

CHEPRASOV, Artem. **Cell Culture Contamination: Types & Identification**. 2018. Disponível em: <https://study.com/academy/lesson/cell-culture-contamination-types-identification.html>. Acesso em: 22 maio 2020.

CORNING LIFE SCIENCES. **A Guide to Understanding and Managing Cell Culture Contamination**. Tewksbury: Corning Incorporated, 2017. Disponível em: <https://www.chemie-brunschwig.ch/documents/suppliers-information/CLS-AN-020-cell-culture-contamination-guide-A4.pdf>. Acesso em: 22 maio 2020.

DREXLER, Hans G.; UPHOFF, Cord C. **Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. Cytotechnology**, Netherlands, v. 39, n. 2, p. 75-90, ago. 2002. Springer Science and Business Media LLC.

ESCOLA DE QUÍMICA. **Desinfecção e Esterilização**. Rio de Janeiro: Ufrj, s.d.

FOGH, J., Nelda B. Holmgren, & Ludovici, P. (1971). **A Review of Cell Culture Contaminations. In Vitro**, 7(1), 26-41. Retrieved May 22, 2020, from www.jstor.org/stable/4291579

HARRISON, M., RAE., **General techniques of cell culture**. Handbooks in Practical Animal Cell Biology. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.

LINCOLN, Carolyn Kay; GABRIDGE, Michael. **Methods in Cell Biology: cell culture contamination: sources, consequences, prevention, and elimination**. New York: Academic Press, 1998.

LOPES, B. R. P. et al. **Diagnosis and treatment of HEp-2 cells contaminated with mycoplasma**. Braz. J. Biol., São Carlos, 2020. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842020005009201&Ing=en&nrm=iso>. Acesso em 15 junho 2020. Epub Abril 22, 2020.

MANRIQUE, Edna J. C.; PAIVA, Eduardo S. de; LIMA, Ana Beatriz M.. **O controle de qualidade dos meios de cultura como ferramenta para assegurar a confiabilidade dos ensaios microbiológicos**. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 52, 2016, Maceió. **Anais do 52º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Goiânia: Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros, 2016.

Ministério da Saúde. **Orientações Gerais para Central de Esterilização**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

MIYAKI, Cosue et al. **Micoplasma como contaminante de culturas celulares mantidas em laboratórios de instituições particulares e oficiais**. Rev. Saúde Pública, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 39-44, Feb. 1989 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101989000100006&Ing=en&nrm=iso>. Acesso em 21 Maio 2020.

Moriya T, Módena JLP. **Assepsia e antissepsia: técnicas de esterilização**. Medicina (Ribeirão Preto). 2008; 41 (3): 265-73.

PEREIRA, Jonny Everson Scherwinski; MATTOS, Maria Laura Turino; FORTES, Gerson Renan de Luces. **Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados**. Pesq. agropec. bras., Brasília , v. 38, n. 7, p. 827-834, July 2003 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X200300070006&Ing=en&nrm=iso>. Acesso em 2 Agosto 2020.

RYAN, John. **Understanding and Managing Cell Culture Contamination**. Lowell: Life Sciences, 1994. Disponível em: https://nexusacademicpublishers.com/uploads/portals/Cell_culture_contaminations_.pdf. Acesso em: 21 maio 2020.

SIGMA. **BM-Cyclin**. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/roche/10799050001?lang=pt@ion=BR>. Acesso em: 15 de junho de 2020.

STACEY, G. N. **Cell Culture Contamination**. In: Cree I. (eds) **Cancer Cell Culture. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)**. Human Press, 2011.

STREET, Herbert Edward. **Plant Tissue and Cell Culture**. California: Blackwell Scientific Publication, 1973.

THERMO FISHER SCIENTIFIC. **Cell Culture Contamination**. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/biological-contamination.html>. Acesso em: 21 maio 2020.

UFRGS. **Assepsia Cirúrgica**. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/blocodeensinofavet/ensino/tecnica-cirurgica/assepsia-cirurgica>. Acesso em: 24 maio 2020.

ZOCHIO, Larissa Barbosa. **Biossegurança em Laboratórios de Análises Clínicas**. São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia

ÍNDICE REMISSIVO

A

Amazônia 174, 229, 230, 231, 232, 240, 242
Análise de água potável 194
Antimicrobianos naturais 255, 256, 257, 266
Artérias carótidas 17, 18, 22, 27, 35, 36, 37, 38
Automedicação 1, 2, 3, 4, 5, 7, 15, 16
Avaliação histopatológica 49
Avifauna 134, 135, 138, 141, 142, 143, 146

B

Baccharis milleflora 79, 80, 82, 85, 86, 90, 92
Bolor preto do pão 147, 149, 150
Bursaphelenchus cocophilus 43, 45, 46, 48

C

Cajanus cajan L. 163, 164, 167, 170
Células vivas 99, 245, 246
Cicatrização de pele 49
Clonagem de DNA 245, 246, 247, 248, 249, 250, 252, 253
Cultivo celular 94, 95, 105

D

Difusão em ágar 256, 266
Distância genética 43, 44, 45, 46
DNA genômico 175, 177, 179, 180, 181, 182, 247
Docentes 155, 156, 160, 162

E

Echinococose cística (*Echinococcus quística*) 108, 109, 183, 184, 187, 190
Educação superior 155, 161
Estações ecológicas 134, 143
Extrato de nódulos 163, 168, 171, 173, 174

F

Fator de virulência 79, 80

Feijão guandu 163, 167, 168, 169, 171, 172, 173

Fungos oportunistas 79

G

Gestação 62, 63, 65, 73, 75, 78

H

Hospedeiros intermediários (*Hospederos intermediarios*) 108, 110, 111, 123, 132

M

Medicamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 12, 50, 52, 60, 61, 63, 88, 215, 230, 231, 239, 241

Melanomas 214, 215, 216, 218, 228

Microdiluição 79, 83, 84, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266

O

Odontologia 155, 156, 157, 158, 160, 161, 162

Óleos essenciais 79, 81, 87, 89, 92, 93, 229, 231, 232, 233, 234, 236, 240, 241, 242, 243, 244, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266

P

Parâmetros físicos-químicos 194

Parâmetros microbiológicos 196

Pereskia aculeata Miller 49, 50, 51, 59, 60, 61

Physalis L. 175, 176, 179, 180, 181

Projeto de extensão 203, 204, 206, 211, 212

Proteção integral 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 144

R

Ratos Wistar 49

Reprogramações metabólicas 214

Rhizopus stolonifer 147, 149, 152, 153

T

Testes de sensibilidade antimicrobiana 255

Tratamento médico (tratamiento médico) 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193

V

Vacina recombinante (vacuna recombinante) 108, 113, 114, 115, 116, 118, 122, 123, 125, 126, 127, 131, 132

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



 www.atenaeditora.com.br

 contato@atenaeditora.com.br

 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)

 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

 Atena
Editora

Ano 2021

O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



 www.atenaeditora.com.br

 contato@atenaeditora.com.br

 @atenaeditora

 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

 **Atena**
Editora

Ano 2021