

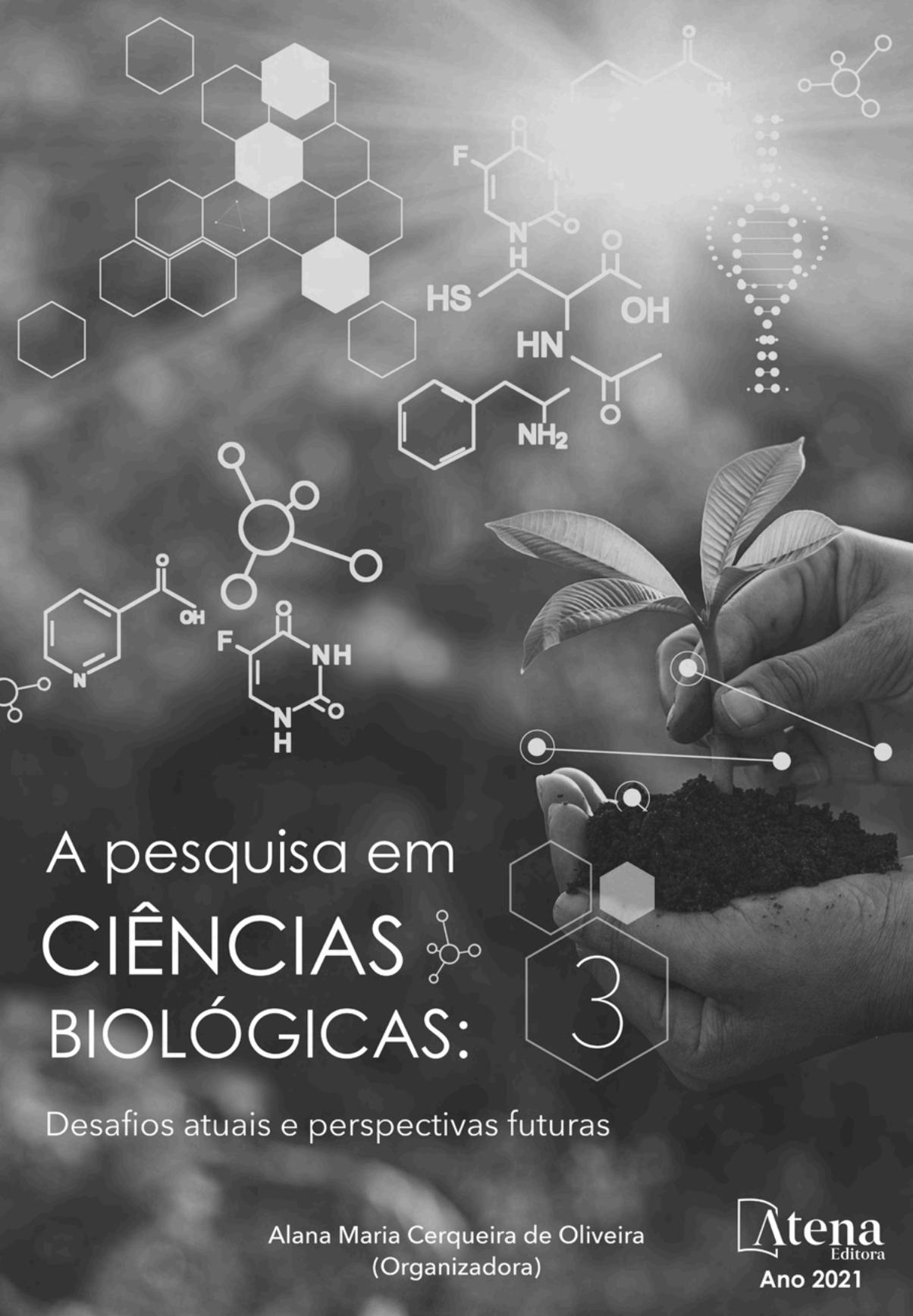


A pesquisa em
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Desafios atuais e perspectivas futuras

Alana Maria Cerqueira de Oliveira
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021



A pesquisa em
CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS:

Desafios atuais e perspectivas futuras

Alana Maria Cerqueira de Oliveira
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2021

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Daphynny Pamplona

Gabriel Motomu Teshima

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

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.

Open access publication by Atena Editora



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 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. Ferlando 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 Federacão 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 da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
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

A pesquisa em ciências biológicas: desafios atuais e perspectivas futuras 3

Diagramação: Daphynny Pamplona
Correção: Bruno Oliveira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Alana Maria Cerqueira de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

P474 A pesquisa em ciências biológicas: desafios atuais e perspectivas futuras 3 / Organizadora Alana Maria Cerqueira de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5983-742-7

DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.427210612>

1. Ciências biológicas. I. Oliveira, Alana Maria Cerqueira 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; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

A Obra “A pesquisa em ciências biológicas: Desafios atuais e perspectivas futuras 3”, traz ao leitor vinte artigos de relevada importância na área de ciências biológicas. O Foco principal desta obra é a discussão e divulgação científica de pesquisas nacionais, englobando as diferentes áreas de atuação da biologia.

É indubitavelmente evidente o avanço científico nesta área, o que aumenta a importância e a necessidade de atualização e consolidação de conceitos, técnicas, procedimentos e temas.

As pesquisas estão divulgadas na forma de artigos originais e de revisões nos diferentes campos dentro das Ciências Biológicas suas subdivisões ou conexões. Portanto, englobando a: Genética, Biologia molecular, Microbiologia, Parasitologia, Virologia, Patologia e Ecologia. Produzindo assim uma obra transversal que vai do atendimento ao paciente a pesquisa básica.

A obra foi elaborada primordialmente com foco nos profissionais, pesquisadores e estudantes pertencentes às Ciências Biológicas e suas interfaces ou áreas afins. Entretanto, é uma leitura interessante para todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área.

Cada capítulo foi elaborado com o propósito de transmitir a informação científica de maneira clara e efetiva, em português, linguagem acessível, concisa e didática, atraindo a atenção do leitor, independente se seu interesse é acadêmico ou profissional.

O livro “A pesquisa em ciências biológicas: Desafios atuais e perspectivas futuras 3”, traz publicações atuais e a Atena Editora traz uma plataforma que oferece uma estrutura adequada, propicia e confiável para a divulgação científica de diversas áreas de pesquisa.

Alana Maria Cerqueira de Oliveira

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

O PAPEL DO FATOR-1 INDUZÍVEL POR HIPÓXIA NA METÁSTASE

Túlio César Ferreira
Kelly Cristina Porcena Fortes
Thiago Sousa da Silva
Alexandre Pereira dos Santos
Eduardo Gomes de Mendonça
Elane Priscila Maciel
Beatriz Camargo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106121>

CAPÍTULO 2..... 22

DOENÇA PERIODONTAL NA COVID-19

Roberta Maria Pimenta Chadú
Ana Gabriela Aguiar Caetano Rezende
Juliana Barbosa de Faria
Taíssa Cássia de Souza Furtado
Sanívia Aparecida de Lima Pereira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106122>

CAPÍTULO 3..... 34

TESTES PARA AVALIAR RESISTÊNCIA DE UNIÃO EM ODONTOLOGIA: REVISÃO DE LITERATURA

Renata Vasconcelos Monteiro
Rodrigo Barros Esteves Lins
Vitor Schweigert Bona
Daniela Micheline dos Santos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106123>

CAPÍTULO 4..... 45

QUALIDADE DE VIDA E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE PACIENTES ONCOLÓGICOS EM QUIMIOTERAPIA

Dalton Luiz Schiessel
Eduarda Kaczuk Refosco
Gabriela Datsch Bennemann
Angélica Rocha de Freitas Melhem
Caryna Eurich Mazur
Mariana Abe Vicente Cavagnari

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106124>

CAPÍTULO 5..... 56

TESTE DO PEZINHO AMPLIADO NO SUS – EXAME PASSARÁ A RASTREAR MAIS DE 50 DOENÇAS RARAS

Fernanda Borgmann Reppetto
Sílvia Muller de Moura Sarmento

Rafael Tamborena Malheiros
Pietra de Vargas Minuzzi
Gênifer Erminda Schreiner
Guilherme de Freitas Teodósio
Laura Smolski dos Santos
Elizandra Gomes Schmitt
Gabriela Escalante Brites
Luana Tamires Maders
Mariana Larré da Silveira
Ilson Dias das Silveira
Vinicius Tejada Nunes
Vanusa Manfredini

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106125>

CAPÍTULO 6..... 70

IMPLANTAÇÃO DO MÉTODO DE AVALIAÇÃO DA ASSISTÊNCIA AO PACIENTE CRÔNICO DE ALTA DEPENDÊNCIA

Maria Helane Rocha Batista Gonçalves
Christian Raphael Fernandes Almeida
Jonisvaldo Pereira Albuquerque
Kelly Barros Marques
Cinara Franco de Sá Nascimento Abreu
Fernanda Colares de Borba Netto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106126>

CAPÍTULO 7..... 83

INFECÇÃO URINÁRIA CAUSADA PELA BACTÉRIA OPORTUNISTA *Escherichia coli* UROPATOGÊNICA

Camila Costa Mendes
Camila Santiago Pinheiro da Silva
Adayran Raposo Lacerda
Olnivânia Mayara Cardozo Almeida
Mari Silma Maia da Silva
Domingos Magno Santos Pereira
Cristiane Santos Silva e Silva Figueiredo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106127>

CAPÍTULO 8..... 92

RINITE ALÉRGICA E FUNÇÃO PULMONAR POR OSCILOMETRIA DE IMPULSO EM CRIANÇAS PRÉ-ESCOLARES

Décio Medeiros
Meyrian Luana Teles de Sousa Luz Soares
Marco Aurélio de Valois Correia Junior
Pedro Henrique Teotônio Medeiros Peixoto
Rita de Cássia da Silva Costa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106128>

CAPÍTULO 9..... 101

DENSIDADE DE INCIDÊNCIA DE *Enterobacteriales* MULTIRRESISTENTES NA UNIDADE NEONATAL DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO SUL DO BRASIL, DE 2010 A 2020

Felipe Crepaldi Duarte
Gerusa Luciana Gomes Magalhães
Thilara Alessandra de Oliveira
Alisson Santana da Silva
Gabrielle Feijó de Araújo
Tiago Danelli
Anna Paula Silva Olak
Marsileni Pelisson
Gilselena Kerbauy Lopes
Jaqueline Dario Capobiango
Eliana Carolina Vespero
Márcia Regina Echtes Perugini

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.4272106129>

CAPÍTULO 10..... 111

A INFLUÊNCIA DA ORIENTAÇÃO NUTRICIONAL NA DIETA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM SÍNDROME DE DOWN

Ingrid da Silva Santos
Amanda Daniel
Natália Tonon Domingues
Lídia Raquel de Carvalho
Alice Yamashita Prearo
Cristina Helena Lima Delambert
Cátia Regina Branco da Fonseca

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061210>

CAPÍTULO 11..... 127

POTENCIAL PATOGÊNICO E TIPAGEM MOLECULAR DE *Klebsiella pneumoniae* PRODUTORAS DE β -LACTAMASES ISOLADAS EM VÁRIOS PAÍSES

André Pitondo da Silva
Mariana de Oliveira-Silva
Rafael Nakamura da Silva
Miguel Augusto de Moraes
Rafael da Silva Goulart
Amanda Kamyla Ferreira da Silva
Gisele Peirano
Johann DD Pitout

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061211>

CAPÍTULO 12..... 147

DETERMINAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE À VANCOMICINA EM ISOLADOS CLÍNICOS HOSPITALARES DE *Staphylococcus aureus*

Tiago Danelli
Felipe Crepaldi Duarte

Thilara Alessandra de Oliveira
Ana Paula Dier
Maria Alice Galvão Ribeiro
Stefani Lino Cardim
Gerusa Luciana Gomes Magalhães
Guilherme Bartolomeu Gonçalves
Marsileni Pelisson
Eliana Carolina Vespero
Sueli Fumie Yamada-Ogatta
Márcia Regina Eches Perugini

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061212>

CAPÍTULO 13..... 157

ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO EXTRATO AQUOSO DE DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Kielmeyera coriacea* MART. & ZUCC. NA GERMINAÇÃO DE *Lactuca sativa* L

Carla Spiller
Maria de Fatima Barbosa Coelho
Elisangela Clarete Camili
Ludmila Porto Piton
Sharmely Hilares Vargas

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061213>

CAPÍTULO 14..... 168

RELATOS SOBRE A UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO SUBSTRATO PARA A PRODUÇÃO DE LIPASES MICROBIANA

Eduardo Henrique Santos Guedes
André Leonardo dos Santos
Andréia Ibiapina
Camila Mariane da Silva Soares
Aynaran Oliveira de Aguiar
Patrícia Oliveira Vellano
Lucas Samuel Soares dos Santos
Gessiel Newton Scheidt
Marcos Giongo
Aloísio Freitas Chagas Junior

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061214>

CAPÍTULO 15..... 185

ESPÉCIES EXÓTICAS INVASORAS: ESTRATÉGIA DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA EM PODCAST DE SCIENCETELLING E EDUTRETENIMENTO

Juliana Galvão de Carvalho Argento
Waldiney Mello

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061215>

CAPÍTULO 16..... 196

EFEITOS DOS NEONICOTINOIDES EM *Apis mellifera* E IMPACTOS SOBRE A

POLINIZAÇÃO

Daiani Rodrigues Moreira
Adriana Aparecida Sinópolis Gigliolli
Cinthia Leão Figueira
Douglas Galhardo
Vagner de Alencar Arnaut de Toledo
Maria Claudia Colla Ruvolo-Takasusuki

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061216>

CAPÍTULO 17..... 211

BURITI (*Mauritia flexuosa* L): IMPORTÂNCIA ECOLÓGICA E OS IMPACTOS DA AÇÃO HUMANA SOBRE A POPULAÇÃO DE BURITIZEIROS EM CIDADES DA REGIÃO LESTE MARANHENSE

Milton de Sousa Falcão
Francisca das Chagas Oliveira
Glaziane Soares Alvarenga
Claudio Wesley Diniz do Carmo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061217>

CAPÍTULO 18..... 218

GRUPOS FUNCIONAIS DO FITOPLÂNCTON COMO INDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RESERVATÓRIO PONTE DE PEDRA (MT/MS, BRAZIL)

Camila Silva Favretto
Simoni Maria Loverde-Oliveira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061218>

CAPÍTULO 19..... 233

NOVO USO PARA O FILTRO EM PROFUNDIDADE CLARISOLVE® EM SUBSTITUIÇÃO À CENTRIFUGAÇÃO CLÁSSICA NA PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS POR PRECIPITAÇÃO SELETIVA

Mirian Nakamura Gouvea
Bruna de Almeida Rocha
Alexandre Bimbo
Juliana Roquetti dos Santos
Elisabeth Christina Nunes Tenório
Victor Gabriel Abramant de Sousa

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061219>

CAPÍTULO 20..... 245

VARIAÇÃO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS: TEMPERATURA E AGITAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO UTILIZANDO RESÍDUOS DA INDÚSTRIA FARINHEIRA

Ágata Silva Cabral
Mariane Daniella da Silva
Crispin Humberto Garcia-Cruz

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.42721061220>

SOBRE A ORGANIZADORA.....	258
ÍNDICE REMISSIVO.....	259

NOVO USO PARA O FILTRO EM PROFUNDIDADE CLARISOLVE® EM SUBSTITUIÇÃO À CENTRIFUGAÇÃO CLÁSSICA NA PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS POR PRECIPITAÇÃO SELETIVA

Data de aceite: 01/11/2021

Data de submissão: 06/09/2021

Mirian Nakamura Gouvea

Instituto Butantan – Seção de Hepatite
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/9473657036859505>

Bruna de Almeida Rocha

Instituto Butantan – Seção de Hepatite
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/2127462305922065>

Alexandre Bimbo

Instituto Butantan – Seção de Hepatite
São Paulo – SP
currículo lates: [http://buscatextual.cnpq.br/
buscatextual/visualizacv.do](http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do)

Juliana Roquetti dos Santos

Instituto Butantan – Seção de Hepatite
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/3478122626329834>

Elisabeth Christina Nunes Tenório

Instituto Butantan – Seção de Hepatite
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/0504611470798567>

Victor Gabriel Abramant de Sousa

Merck SA
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/5626287313894633>

A vacina de hepatite B (recombinante) do Instituto Butantan é composta pela proteína recombinante de superfície do vírus, antígeno S (HBsAg). No processo de purificação das partículas semelhantes ao vírus (VLPs), o precipitado de proteínas da cepa hospedeira (HCPs) é atualmente removido por centrifugação contínua. Os filtros de profundidade Clarisolve® são apresentados como ferramentas eficientes para clarificar culturas celulares de alta densidade. Nós avaliamos os filtros Clarisolve® 20MS, 40MS e 60HX, comparando os filtrados com o controle centrifugado, a fim de verificar a viabilidade do seu uso como técnica alternativa na remoção de precipitados de proteínas. Os desempenhos foram similares e satisfatórios em termos do aumento de pressão ao longo do procedimento, bem como turbidez, OD_{280} , perfil eletroforético, conteúdo de proteínas total/específica e de DNA residual do filtrado. O filtro 40MS foi selecionado para um desafio de alto fluxo, compatível com as necessidades da escala industrial. Houve um incremento de pressão exponencial no final da corrida, embora estivesse bastante aquém do limite de pressão do filtro e sem impacto na qualidade do filtrado. Desta forma, 40MS foi considerado o candidato ideal para substituir a centrifugação na remoção de HCPs.

PALAVRAS-CHAVE: filtro de profundidade, precipitação seletiva de proteínas, clarificação.

RESUMO: A precipitação seletiva de proteínas é largamente utilizada na produção de biofármacos.

NOVEL USE FOR CLARISOLVE® DEPTH FILTERS SUBSTITUTING CLASSICAL CENTRIFUGATION IN PROTEIN PURIFICATION BY SELECTIVE PRECIPITATION

ABSTRACT: Selective protein precipitation is widely used in the production of biopharmaceuticals. Butantan Institute's hepatitis B vaccine is composed by the virus recombinant surface S-antigen (HBsAg). Continuous centrifugation is currently used to remove host cell proteins (HCPs) precipitates in the virus-like particles (VLPs) purification process. Clarisolve® depth filter is presented as an efficient tool to clarify high-density cell cultures. We evaluated 20MS, 40MS and 60HX Clarisolve® units against centrifugation (control) in order to verify its feasibility as an alternative technique to protein precipitates removal. They presented similar and satisfactory performance in terms of pressure along the procedure and also filtrate's turbidity, OD₂₈₀, total/specific protein, electrophoretic profile and DNA content. The 40MS media was selected for a high-flow challenge, compatible with industrial production demand. Resistance increased exponentially at the end, even though far from the limit pressure, with no impact on filtrate quality. Therefore, 40MS was considered the ideal candidate to replace HCP clearance by centrifugation.

KEYWORDS: depth filter, selective protein precipitation, clarification

1 | INTRODUÇÃO

Os processos de purificação de proteínas na produção de biofármacos incluem, em sua grande maioria, etapas de clarificação primária (separação de células e debris celulares) e secundária (remoção de macromoléculas, em etapas posteriores de purificação). A importância das etapas iniciais após a colheita e (se necessário) a desintegração das células, é a de preparar o produto intermediário para os passos subsequentes mais refinados e específicos de purificação da proteína alvo (LE MERDY, 2015). Classicamente a centrifugação tem sido a técnica padrão utilizada, seguida ou não por filtração. Cada vez mais, com o contínuo desenvolvimento de filtros mais eficientes, a clarificação por filtração tem sido como uma alternativa atraente (O'BRIEN *et al.*, 2012), por conta da facilidade de escalonamento e compatibilidade com processos de uso único (BESNARD *et al.*, 2016). Filtros em profundidade com variados desenhos de construção são boas opções para processar volumes vultosos e/ou altas densidades celulares. A disponibilidade de filtros de profundidade de uso único para processos em larga escala tem permitido aos desenvolvedores melhorar e simplificar os processos de *downstream* (O'BRIEN *et al.*, 2012). Novos filtros têm sido criados, associados a pré-tratamentos da suspensão de forma a flocular/agregar células, *debris* e impurezas associadas, possibilitando processos mais ágeis, flexíveis e escalonáveis (SINGH *et al.*, 2013).

Os filtros Clarisolve® (Merck Millipore) são construídos em multicamadas, de forma a conferir um gradiente de densidade projetado especificamente para distribuições de partículas de diferentes tamanhos (figura 1). Foram inicialmente concebidos para substituir centrífugas na clarificação primária de culturas de células pré-tratadas (floculação), particularmente na produção de anticorpos monoclonais (MERCK MILLIPORE, 2017),

resultando em um filtrado de baixa turbidez contendo a proteína de interesse.

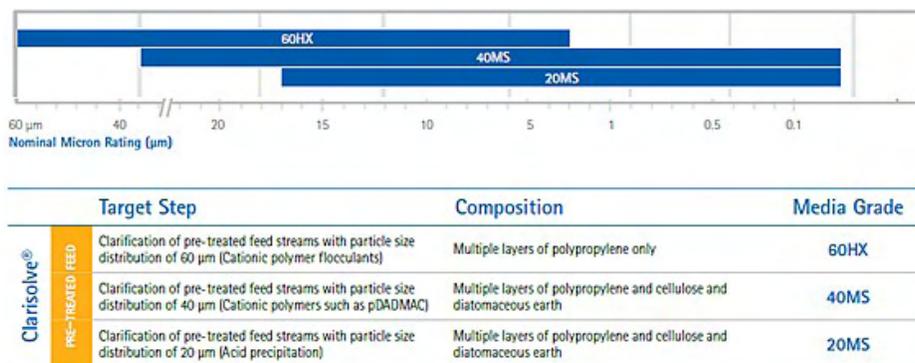


Figura 1. Filtros Clarisolve® (Merck Millipore). Faixas de porosidade, composição e aplicações. (Modificado de Merck Millipore, 2016)

A vacina adsorvida hepatite B (recombinante) produzida no Instituto Butantan é composta pelo antígeno S de superfície do vírus (HBsAg), expresso pela levedura transformada *Pichia angusta* (*Hansenula polymorpha*). Após o processo fermentativo as células são colhidas, lavadas e rompidas. O processo de purificação inclui a precipitação seletiva de proteínas derivadas da célula hospedeira (HCPs), por redução de pH. Os precipitados são removidos por centrifugação em fluxo contínuo, conferindo uma redução pelo menos 80% das proteínas totais. Vislumbramos a possibilidade de substituir a centrífuga por filtro de profundidade nesta etapa. O objetivo deste trabalho foi avaliar os filtros Clarisolve® na remoção dos agregados de HCPs/ácidos nucleicos após a precipitação ácida.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material aplicado

Material da fase intermediária de purificação do HBsAg, após as etapas de desintegração celular, remoção dos *debris* por centrifugação, concentração e diafiltração do sobrenadante (CD). Antes das filtrações o pH foi reduzido sob baixa agitação, em banho de gelo, para promover a precipitação de HCPs e ácidos nucleicos, predominantemente.

O pH dos filtrados e do sobrenadante da centrifugação (padrão) foi neutralizado imediatamente após sua obtenção.

2.2 Filtração

Foram utilizados os filtros em profundidade Clarisolve® mPod (Merck Millipore), com 23 cm² de área, nas gramaturas disponíveis - 20MS, 40MS e 60HX (figura 1 e 2A). CD

(300 – 330 mL) foi aplicado em até três filtros simultaneamente, em linhas paralelas (figura 2B). A pressão dos sistemas foi continuamente monitorada e todo o filtrado foi fracionado (15 mL) para análises. Como controle, uma amostra de CD foi centrifugada (6.000 x g/35 min), para remoção dos precipitados e colheita do sobrenadante clarificado (PS). Os testes de dimensionamento dos filtros Clarisolve® seguiram as metodologias PMax™ e TMax™ (MERCK MILLIPORE, 2000).

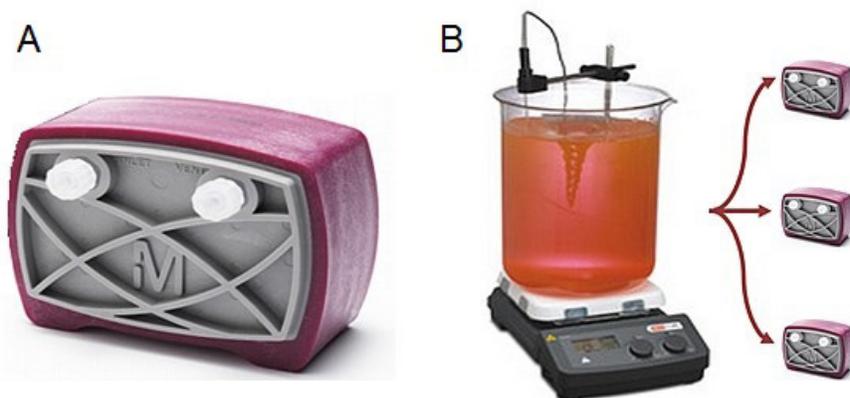


Figura 2. Unidade filtrante Clarisolve®: A) Clarisolve® mPod, 23 cm², 20MS, 40MS ou 60HX.

B) Esquema de aplicação de CD em até 3 unidades, simultaneamente, com monitoramento contínuo da pressão.

2.3 Análises

As frações (15 mL) e o *pool* de cada filtrado, assim como o controle centrifugado, foram analisados quanto a turbidez (medida indireta, DO₆₀₀), DO₂₈₀, conteúdo de proteínas totais (Pierce™ BCA Protein Assay Kit – ThermoFisher Scientific), titulação da proteína específica (PHA – *passive haemagglutination assay*, RCP Diagnostic Systems, cat. #B-431 - Rússia), perfil eletroforético (SDS-PAGE, 12% acrilamida - LAEMMLI, 1970) corado por prata (HEMPELMANN & KAMINSKY, 1986), padrão de HBsAg purificado (concentrado proteico da vacina adsorvida hepatite B do Instituto Butantan), padrão de peso molecular LMW eletroforese SDS, (Amersham, atual Cytiva) e conteúdo de DNA residual (Quant-iT™ PicoGreen dsDNA assay kit – Invitrogen).

3 | RESULTADOS

3.1 Triagem

No primeiro teste comparamos os três modelos disponíveis dos filtros Clarisolve® - 20MS, 40MS e 60HX. As unidades foram montadas em paralelo, alimentadas pela mesma

bomba peristáltica (figura 2B) e 330 mL (130 mL/m²) de CD foram aplicados em cada uma delas, simultaneamente. O fluxo de alimentação foi de 45 L/m²h, próximo ao recomendado pelo fabricante. As características dos filtrados – turbidez, proteínas totais, específica e conteúdo de ácidos nucleicos - foram semelhantes entre si e também o controle centrifugado PS (tabela 1). De modo geral, durante a corrida os valores de turbidez e DO₂₈₀ foram mais altos nos primeiros 50 L/m² (frações iniciais), particularmente com o HX60, com estabilização em cerca de 10% daqueles do material inicial (figura 3A). Nos filtrados (*pool* das frações), bem como no controle centrifugado PS, houve uma perda de até 4 vezes do HBsAg. Em contrapartida, o conteúdo de proteínas totais caiu para menos de 20% e o de DNA residual para menos de 3% em relação ao material inicial.

Teste 1	CD #1	PS 1	20MS	40MS	60HX	
DO₂₈₀	40,15	4,76	4,40	5,22	4,68	
Turbidez (NTU)	979		214	176	218	
HBsAg (título)	<16000	4000	>4000	>4000	>4000	
BCA (mg/mL)	2390	447	487	479	450	
DNA (ng/mL)	76640	547	1726	1136	2018	
Testes 2&3	CD #2	PS 2	20MS	40MS	PS 3	40MS high flux
Turbidez (NTU)	900		96	87,9		83,2
DO₂₈₀	38,10	4,23	3,78	3,53	4,23	363
HBsAg (título)	32000	>4000	8000	>4000	>4000	>4000
BCA (mg/mL)	4150	458	503	476	578	466
DNA (ng/mL)	51040	315	1431	537		538

Tabela 1. Resultados das análises dos filtrados (*pools*) dos três testes, comparados ao controle centrifugado (PS) e o material inicial (CD). Proteínas totais (por BCA), específica (titulação do HBsAg por hemaglutinação passiva) e conteúdo de DNA residual. PS 1, 2 e 3 são os materiais centrifugados durante testes 1 a 3, respectivamente. NTU = (Unidade de Turbidez Nefelométrica).

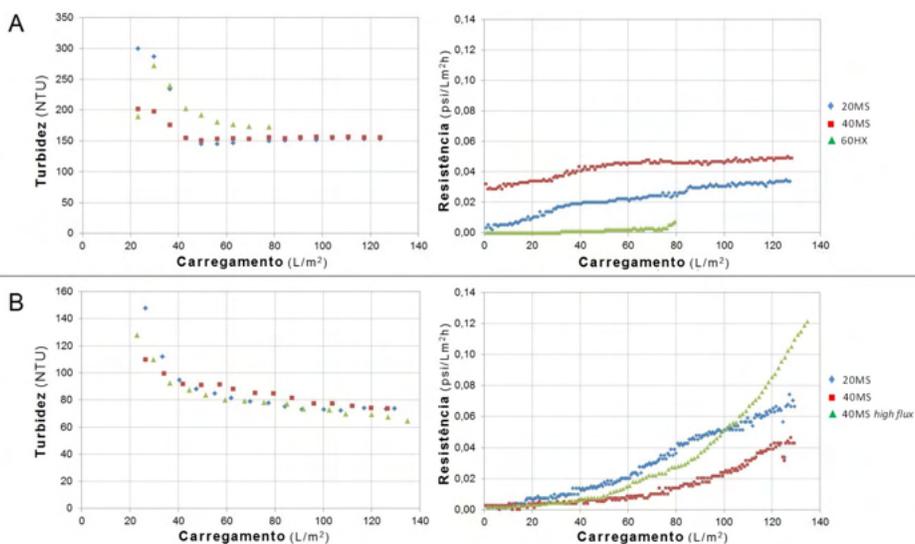


Figure 3. Desempenho dos filtros Clarisolve®: turbidez (frações) e pressão ao longo do processo de filtração. **A)** teste 1 (45 L/m²h); **B)** testes 2 (36 L/m² h) e 3 (83 L/m²h - *high flux*).

Durante parte da filtração com a unidade 20MS houve formação de espuma, sem comprometimento da corrida ou do produto resultante. Este fenômeno, por outro lado, foi mais intenso com o filtro 60HX, determinando a finalização precoce da filtração e, conseqüentemente, a eliminação deste modelo nos demais estudos. Observou-se também um leve aumento da pressão dos sistemas, mas sempre abaixo de 0,08 psi, valor este distante do limite máximo de 20 psi preconizado pelo fabricante. (figura 3A).

Os filtros 20MS e 40MS foram novamente comparados entre si num segundo teste, com um novo lote de CD. A partir deste teste foi decidido o aguardo de 30 minutos após a redução de pH, antes do início da filtração, realizada num fluxo de 36 L/m²h. Os desempenhos foram semelhantes aos observados na primeira triagem (figura 3B e tabela 1), com uma sutil vantagem do Clarisolve® 40MS no fluxo de filtração e na remoção de DNA residual. Não foram observadas diferenças relevantes no perfil eletroforético das frações/*pool* oriundos dos dois filtros (figura 4). As frações iniciais ainda apresentaram mais impurezas, mas sem impacto para a qualidade do filtrado total.

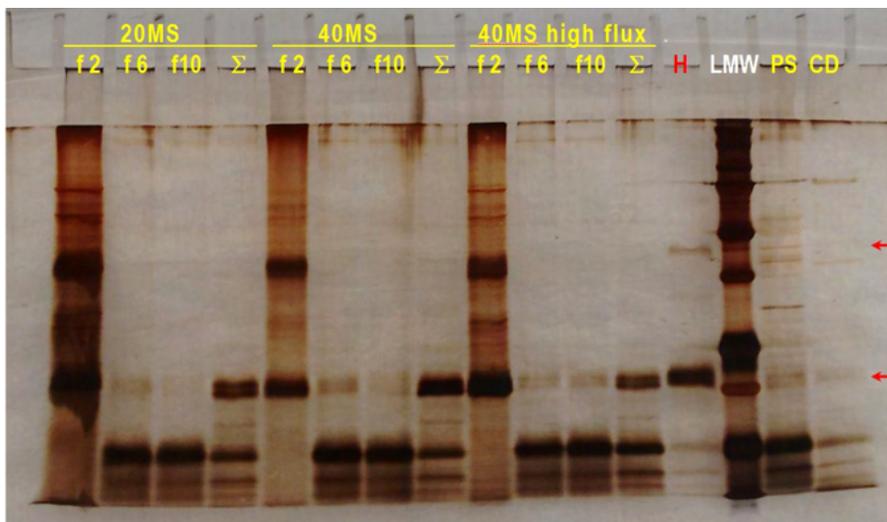


Figure 4. SDS-PAGE de amostras dos testes 2 e 3.

f=fração; S=pool de frações de cada filtrado; H= HBsAg purificado (setas indicam altura das bandas correspondentes aos monômero e dímero); LMW = padrão de peso molecular; PS = sobrenadante centrifugado (controle), CD = material inicial, antes da redução de pH.

3.2 Desafio

O mesmo lote de CD do segundo teste foi utilizado num terceiro teste, para desafiar o filtro Clarisolve® 40MS com incremento do fluxo de 83 L/m²h (figura 3B). Mesmo com o aumento exponencial da resistência no final da filtração, alcançando 12 psi/Lm²h, ainda restou uma grande margem em relação à pressão máxima preconizada pelo fabricante, de 20 psi/Lm²h. A figura 4 mostra o perfil eletroforético de uma fração inicial, intermediária e final dos testes 2 e 3, comparadas ao do material inicial e do controle centrifugado. As frações iniciais apresentam mais bandas, tanto as correspondentes aos monômeros e dímeros de HBsAg (pela comparação com o antígeno purificado, amostra H) quanto por algumas contaminantes. Já havia sido verificado em amostras do processo industrial, por *Western Blot*, que as bandas de baixo peso moléculas presentes em quase todas as amostras são de HBsAg degradado, não impactando na pureza do produto. A qualidade do filtrado (pool) no desafio foi mantida, semelhante aos filtrados em menor fluxo e ao padrão centrifugado PS (tabela 1, figura 4).

4 | DISCUSSÃO

Embora as etapas de clarificação sejam tecnologicamente mais simples, o estabelecimento cuidadoso de parâmetros impacta enormemente na qualidade do material resultante e, conseqüentemente, no desempenho das etapas posteriores de purificação. Por muitos anos a centrifugação tem sido a técnica padrão, seja na clarificação primária (remoção de células e *debris* celulares), seja na secundária, em etapas posteriores do *downstream*. Com

o desenvolvimento da tecnologia de construção dos sistemas filtrantes, associada à crescente tendência de dispositivos de uso único na indústria de biofármacos, a substituição da centrífuga por filtros tem sido cada vez mais presente. Além das vantagens no escalonamento, dispensa dos procedimentos de limpeza e, conseqüentemente, o da custosa validação de limpeza, há também a facilidade de sua implementação no processo produtivo (BESNARD *et al.*, 2016). Neste universo em expansão, os filtros em profundidade modernos despertam grande interesse, pela sua capacidade de processar volumes cada vez maiores, principalmente associados a pré-tratamento do material com agentes floculantes, com uma área filtrante relativamente pequena, se compararmos aos filtros de décadas atrás. Encontramos muitos exemplos do seu uso nas etapas de colheita e na clarificação após rompimento celular. Neste trabalho verificamos se esse tipo de filtro poderia também ser usado na separação de proteínas precipitadas de uma suspensão, uso esse ainda limitado nos bioprocessos. Os filtros Clarisolve® (Merck Millipore) foram concebidos para separação de células em culturas de alta densidade, para obtenção do meio contendo anticorpos monoclonais (MERCK MILLIPORE, 2017). Por seu tipo de estrutura, mostraram-se bons candidatos a esse estudo, devido à faixa de tamanho de poros ser aparentemente compatível com nosso material.

Durante a redução do pH é importante que o material seja mantido em temperatura baixa, inferior a 12 °C. A agitação constante é necessária durante a adição do ácido, para que não haja pontos de extremos de pH, mas deve ser apenas o suficiente para homogeneizar a suspensão. O princípio deste método é o de que, quando o pH atinge o valor do seu pI, a somatória de cargas (resíduos positivos x negativos) de cada proteína equilibrada e, portanto, neutra. Isto permite que as moléculas se aproximem umas das outras, pela diminuição da repulsão elétrica, e precipitem. Uma agitação mais vigorosa pode prejudicar essa interação molecular.

Num primeiro teste comparamos os três modelos à disposição, simultaneamente, como o mesmo material e a mesma alimentação do sistema. Houve uma perda importante do HBsAg, mas não diferente da resultante da clarificação por centrifugação. Em contrapartida, o conteúdo de proteínas totais foi reduzido em mais de 80%, uma importante taxa de purificação já no início do *downstream*. A remoção de DNA residual também foi bastante relevante: embora a concentração fosse de 2 a 4 vezes maior nos filtrados em relação ao controle centrifugado, mesmo assim representou mais de 97% de redução. Apesar da clarificação nesta etapa objetivar a remoção das HCPs, não é inesperado o grande efeito carreador de ácidos nucleicos resultante.

O alvo de uma clarificação primária é a obtenção de um filtrado límpido, como a menor turbidez possível. No nosso caso é importante que seja mantida uma porcentagem para que não ocorra perda do HBsAg nas etapas subsequentes de purificação. Os valores de turbidez, DO₂₈₀ e conteúdo proteico foram semelhantes aos do controle centrifugado, como era desejado.

Nesta primeira triagem o filtro 60HX foi descartado, já que houve formação de espuma durante quase toda a corrida, impedindo a finalização da filtração. Apesar deste ocorrido ter sido inicialmente inesperado, por ser o modelo de maior porosidade, é bastante plausível que as camadas intercalantes de celulose e terra diatomácea (ausentes apenas

no 60HX) contribuam significativamente na capacidade dos outros modelos. A filtração com o 20MS também apresentou formação de espuma por um tempo, mas sem impacto para o processo nem para o produto, aparentemente.

Os filtros 20MS e 40MS foram então novamente comparados, com um outro lote de CD. Como as frações iniciais dos filtrados do primeiro teste haviam apresentado grau de impurezas considerável, decidimos aguardar 30 minutos após a redução do pH, para tornar mais eficiente a formação dos precipitados. O desempenho dos filtros neste segundo teste foi semelhante ao do primeiro – as pequenas diferenças podem estar associadas a:

1. Concentração proteica inicial – a variação de DO_{280} do material inicial pode influenciar na porcentagem de precipitação das HCPs, exigindo em casos mais extremos uma maior redução do pH;
2. Tamanho dos agregados – é bem possível que a espera de 30 min após a redução do pH, antes da filtração, tenha resultado em partículas um pouco maiores, o que pode ter permitido a retenção de proteínas de forma diversa em relação ao primeiro teste. A tabela 1 e a figura 4 mostram que a turbidez do *pool* de filtrados e das frações, respectivamente, foi praticamente a metade no segundo teste em relação ao primeiro, para os mesmos modelos de filtro, mesmo a pressão durante a filtração foi semelhante nos dois testes com o modelo 40MS, já para o 20MS ela praticamente dobrou. Uma explicação é a de os poros maiores do filtro 40MS permitiram uma distribuição mais uniforme por todo o corpo filtrante, enquanto o 20MS pode ter sofrido uma saturação precoce das primeiras camadas;
3. Poderíamos supor que a pequena diferença de fluxo entre o primeiro e segundo teste (45 L/m²h e 36 L/m²h). Mas frente à semelhança de desempenho num fluxo duas vezes maior, essa suposição é improvável.

A maior concentração de impurezas nas primeiras frações não chegou a impactar na qualidade do filtrado total (figura 4). As HCPs remanescentes no material após a clarificação (filtrado ou centrifugado) são provavelmente ácidas – permaneceram solubilizadas pelo fato do pH não ter sido reduzido o suficiente para se igualar ao pI das mesmas. A amostra de CD (material inicial) aplicada no gel de eletroforese foi bastante diluída para melhor visualização das bandas de interesse, o que pode dar a falsa impressão de que está muito pura – sem essa diluição não seria possível distinguir as proteínas entre si.

O modelo 40MS foi eleito para ser desafiado com um fluxo maior de alimentação, de forma que o tempo total de processo fosse compatível com a realidade na produção industrial. Não houve impacto na qualidade do produto obtido (tabela 1, amostra 40MS *high flux*). No final da filtração a pressão subiu de forma mais incisiva em relação ao teste anterior, se mantendo mesmo assim bem aquém do limite recomendado pelo fabricante. Isso significa que, provavelmente, um volume extra poderia ter sido processado antes da saturação do filtro. Seria necessário conferir se a qualidade do filtrado seria mantida, mas a probabilidade é alta já que os resultados preliminares mostram que, em todos os cenários, a qualidade do filtrado permanece constante após um carregamento de 50 L/m²h.

Embora a remoção do conteúdo de DNA (da cepa produtora) residual não seja o propósito principal desta etapa de purificação, há um claro efeito carreador (tabela 1), para o qual o filtro 40MS se mostrou mais eficiente. Houve uma redução de mais de 97%, efeito este importante já que para reprovação do concentrado proteico (o produto final da purificação) bastam 100 pg DNA no equivalente a 1 dose de vacina.

VENKITESHWARAN *et al.* (2015) discutem que os filtros de profundidade comumente possuem celulose e terra diatomácea em sua estrutura, como é o caso dos Clarisolve® 20MS e 40MS. A estrutura fibrosa desses filtros é mantida por ligantes de resina polimérica positivamente carregadas. Os mesmos mecanismos de captura mecânica e adsorção por interações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas podem reter parte das partículas virais, embora esse comportamento possa variar conforme o vírus e o filtro. Considerando a significativa perda do HBsAg observada no processo de clarificação, é possível que parte esteja retida por esses fenômenos, somando-se ao efeito carreador da precipitação em si, já que o controle centrifugado também sofre esta perda.

A empresa fornecedora dos filtros Clarisolve® participou da condução destes estudos. Foi possível determinar a área filtrante de 2,75 m² como suficiente para realizar a clarificação de 200 L de CD, no mesmo tempo gasto para a centrifugação, incluindo a limpeza do equipamento – etapa inexistente no uso dos filtros, pelo fato de serem descartáveis. Os testes de dimensionamento dos filtros Clarisolve® seguiram as metodologias PMax™ e TMax™, onde o objetivo do ensaio visa encontrar pontos máximos de contrapressão e turbidez máxima, respectivamente. Essa metodologia auxilia nas etapas de escalonamento do processo, pois o comportamento real da filtração em um dado fluxo constante é realizado seguindo o esperado para a etapa de processo. A técnica de PMax™ é comumente utilizada para dimensionamento de filtros de profundidade e a escolha do fluxo de alimentação adequado interfere nos mecanismos de retenção dos filtros. Por se tratar de filtros que possuem carga positiva, oriunda das resinas ligantes das matrizes dos filtros, o filtro retém partículas indesejadas por exclusão por tamanho e adsorção de partículas carregadas negativamente, melhorando a performance dos filtros. O ensaio TMax™ visa encontrar a curva de ruptura de turbidez, medida em NTU, onde o valor limite está vinculado a turbidez inicial da amostra antes da filtração. A medida de turbidez é um dos indicativos de qualidade e, sendo medido ao longo do ensaio, apresenta uma curva de capacidade (L/m²) dos filtros.

Os gráficos apresentados usam referências de carregamento ou capacidade (L/m²) e resistência (psi/L/m².h). Esses valores são importantes de serem representados para o monitoramento e a manutenção de escalas e comparativos futuros, como os realizados no estudo, com fluxos mais altos. Um filtro pode apresentar resistências distintas relativas a fluxos diferentes, dado o fato de que os mecanismos de saturação e, conseqüentemente, qualidade do filtrado tem relação direta com o fluxo de alimentação e tempo de residência das partículas na profundidade dos filtros.

Além da vantagem de não requerer uma etapa de limpeza e sanitização de equipamento,

principalmente para fábricas ainda em planejamento, ainda temos o tamanho mais reduzido, a flexibilidade e a manutenção do sistema de filtração - suporte com os cassetes e bomba de alimentação – em relação a uma centrífuga industrial

A precipitação seletiva de proteínas na indústria de biofármacos é também obtida com adição de sais (ex. sulfato de amônio), em concentrações bem definidas, de acordo com as características da proteína alvo e das HCPs. É bastante plausível que os filtros em profundidade possam também substituir as centrífugas no processo de clarificação neste caso.

5 | CONCLUSÕES

Por ser um processo relativamente barato e com capacidade de processar grandes volumes de material, as técnicas de clarificação são muito empregadas no início do processo de purificação. A sua qualidade tem impacto importante no desempenho das demais etapas do processo.

Os filtros Clarisolve® se mostraram compatíveis com a demanda de processo da etapa de clarificação pós precipitação ácida, na produção da vacina de hepatite B (recombinante) do Instituto Butantan, tendo o modelo 40MS sido eleito como a melhor escolha para substituir a centrifugação. Mais estudos para o refino dos parâmetros do processo de filtração, incluindo um eventual ajuste na força iônica do material inicial, bem como um estudo de arraste de material retido nos filtros com tampões, podem reduzir a perda do HBsAg, principal revés desta etapa.

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro: Fundação Butantan. Fornecimento dos filtros e execução das corridas pela Merck Millipore.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Da parte dos autores, declara-se que não há conflito de interesse influente no resultado da pesquisa.

REFERÊNCIAS

BESNARD, L. *et al.* Clarification of vaccines: An overview of filter based technology trends. **BiotechAdv**, France, v. 34, p. 1-13, dec. 2015.

LE MERDY, SARAH. Selection of Clarification Methods for Improved Downstream Performance and Economics. **BioProcessing Journal**, Germany, v. 14, p. 50-55, oct. 2015.

O'BRIEN, T. P. *et al.* Large-Scale, Single-Use Depth Filtration Systems. **BioProcess International**, v. 10, n. 5, p. 50-57, may. 2012.

ROUSH, D. J.; LU, Y. Advances in Primary Recovery: Centrifugation and Membrane Technology. **Biotechnol.** California, v. 24, n. 3, p. 488-495, apr. 2008.

VENKITESHWARAN, A. *et al.* Mechanistic Evaluation of Virus Clearance by Depth Filtration. **Biotechnol. Prog.**, Indiana, v. 31, n. 31, mar. 2015.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, Cambridge, vol. 227, p. 680-685, aug. 1970.

HEMPELMANN E.; KAMINSKY R. Long term stability of colors after silver staining. *Electrophoresis*, Germany, v. 7, p. 481, may 1986.

SINGH, N., PIZZELLI, K., ROMERO, J., CHROSTOWSKI, J., EVANGELIST, G. HAMZIK, J., SOICE, N., CHENG, K.S. Clarification of recombinant proteins from high cell density mammalian cell culture systems using new improved depth filters. **Biotechnol. Bioeng.** v. 110 (7), p. 1964–72. jul. 2013.

MERCK MILLIPORE. Clarification Solutions for Pre-treated Feed Streams. Data Sheet. Germany: [DS5221EN00 Ver. 9.0. 2017-06224.], out. 2017.

MERCK MILLIPORE. Single-use and multi-use products for the successful development and implementation of robust clarification processes. Clarification Portfolio Guide, United States: [PB1241EN00 Ver. 1.0], june 2016.

MERCK MILLIPORE. Filter Sizing Methods: for normal flow filtration (NFF) applications. **Application Note.** United States: [AN1512EN00 rev – 3/00], 2000.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abelhas melíferas 196, 203, 204

Aleloquímicos 157, 158, 162

Alface 157, 158, 159, 160, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 201

Assistência a pacientes crônicos 70, 73

B

Barragem das águas 212

Bioindicadores 218, 220, 230

Buriti 212, 216, 217

C

Clarificação 233, 234, 239, 240, 241, 242, 243

Coronavírus 22, 23, 24, 25, 26, 33

Covid-19 4, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 32, 33, 116

D

Desmatamento 211, 212, 213, 214, 216, 217

Doenças periodontais 22, 28, 29, 30, 33

E

Educação alimentar 112

Ensino de ciências 185

Enterobacterales 6, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109

Enterobacter cloacae 102, 103, 105

Escherichia coli 5, 83, 84, 85, 86, 87, 90, 91, 110, 143, 144, 145

Espécies invasoras 185, 187

Estado nutricional 45, 46, 51, 52, 111, 112, 114, 121, 124, 125, 231

Etanol de segunda geração 246, 247, 256

F

Fator-1 4, 1, 2, 4, 5

Fermentação 168, 169, 170, 172, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 245, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256

Filtro de profundidade 233, 235

Fitoplanctônicos 218, 219, 229, 232

Função pulmonar 5, 92, 93, 97, 98, 99

H

Hipóxia 4, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18

I

Indicador de resultado 70, 73, 75, 76, 81

Infecções urinárias 83, 85, 87

Inseticidas 196, 197, 200, 201, 204, 206, 208

K

Klebsiella pneumoniae 6, 102, 103, 109, 127, 128, 134, 141, 142, 143, 144, 145, 146

L

Lipase 168, 169, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184

M

Mauritia flexuosa I 8, 211, 212

Microalgas 218, 219, 222

Microorganismo multirresistente 102, 108

Multirresistência antimicrobianos 128

P

Pacientes oncológicos 4, 45, 46, 47, 51, 52, 53, 55

Pau-santo 157, 158

periodontite 22, 24, 27, 28, 29, 30, 31, 32

Periodontite 22, 29

Podcast 7, 185, 186, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194

Polinizadores 196, 197, 198, 200, 201, 202, 204, 210

Potencial alelopático 157, 158, 165, 166, 167

precipitação seletiva de proteínas 233, 235, 243

Q

Qualidade da água 8, 218, 219, 221, 222, 227, 228, 229, 230, 232

R

Reservatório hidrelétrico 218, 225

Resíduo agroindustrial 169, 172

Resíduos de mandioca 245, 246, 247, 248, 255, 256

Resistência ao cisalhamento 34, 38, 40

Resistência à tração 34, 35, 36

Riacho pinto 212, 214, 216

Rinite alérgica 5, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100

S

Sars-COV-2 33

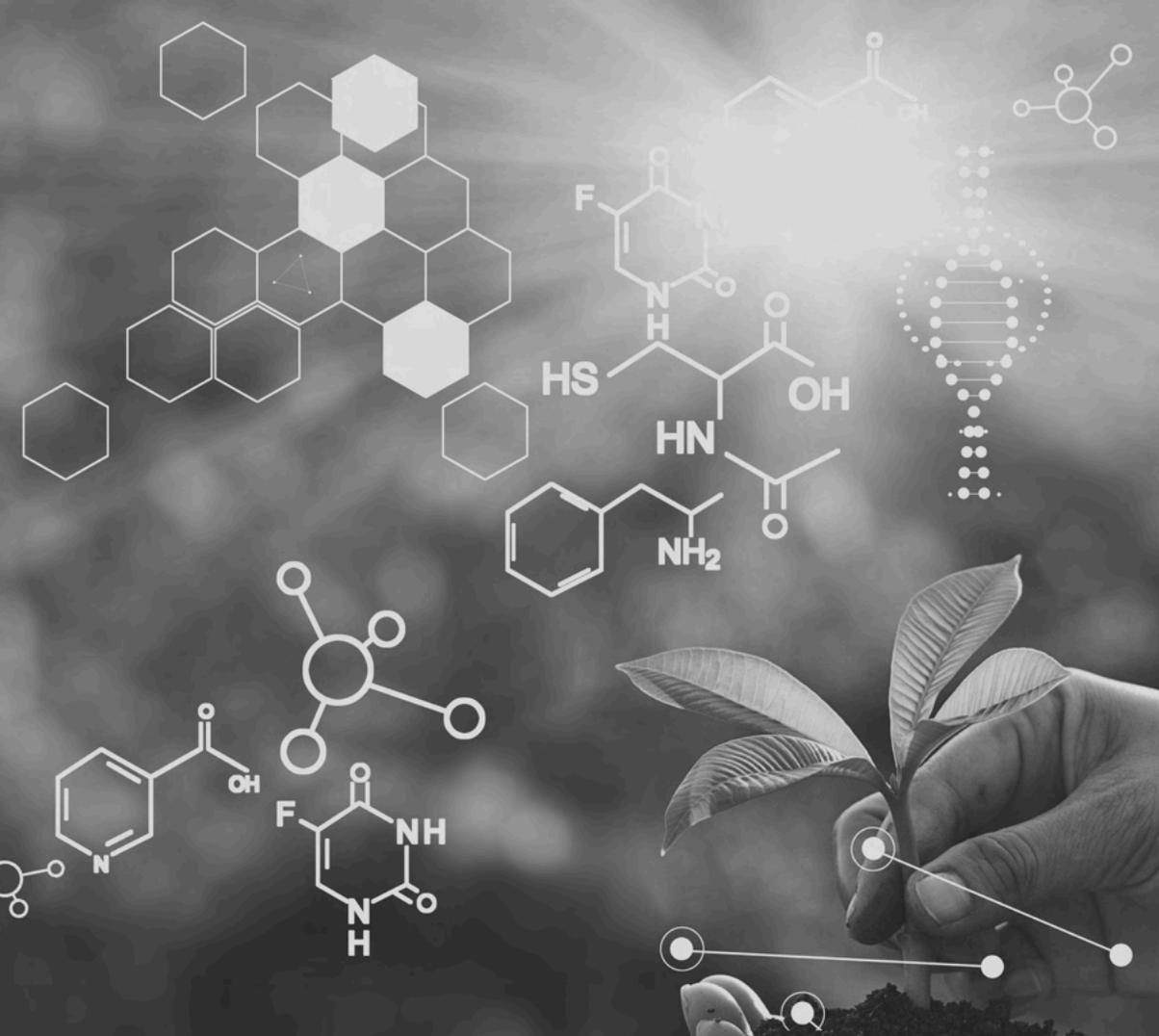
Serratia marcescens 102, 103, 105

Síndrome de down 6, 29, 111

Staphylococcus aureus 6, 110, 147, 148, 149, 151, 152, 154, 155, 156

V

Vancomicina 6, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154



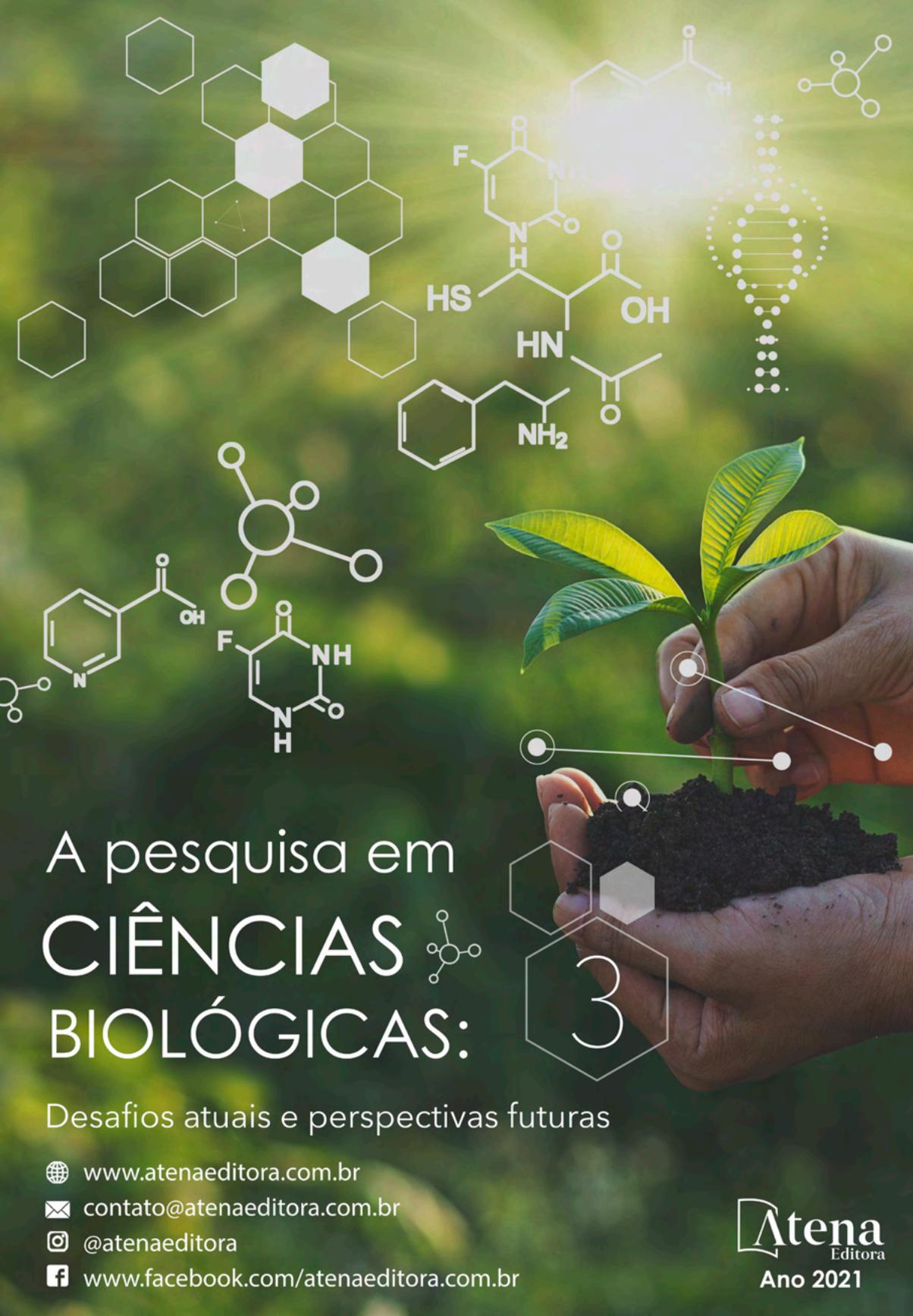
A pesquisa em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

3

Desafios atuais e perspectivas futuras

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2021



A pesquisa em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

3

Desafios atuais e perspectivas futuras

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2021