



## Estratégias de combate a contaminação fúngica em ambientes laboratoriais

### Strategies to combat fungal contamination in laboratory environments

Maria Fernanda Werlang Momoli<sup>1</sup>, Renata Micketen<sup>2</sup>, Hézila Dalla Costa<sup>3</sup>, Juliana Vitória Messias Bittencourt<sup>4</sup>

#### RESUMO

Contaminação fúngica em laboratórios é uma preocupação em diversos campos científicos e industriais, dada a ameaça à segurança biológica e à integridade dos produtos desenvolvidos dentro de laboratórios. Este trabalho destaca abordagens para combater a contaminação fúngica, com foco na preservação da qualidade das pesquisas e na segurança dos profissionais envolvidos. O objetivo foi fornecer estratégias para a prevenção de contaminação por fungos em ambientes onde ocorrem estudos e trabalhos com microrganismos. Foram analisados métodos de controle de contaminações e selecionadas alternativas que mitigassem a contaminação fúngica de um laboratório de microbiologia da UTFPR campus Ponta Grossa, como a utilização de luz UV, desinfecção de bancadas com o sanitizante Lysoform e descontaminação do ambiente laboratorial com ácido peracético. A nebulização com o sanitizante orgânico ganha destaque por se tratar do método com maior eficácia contra o microrganismo indesejado. A revisão ainda traz que a adoção de procedimentos rigorosos de higiene, incluindo a esterilização de equipamentos e o uso adequado de EPI, é crucial para minimizar o risco de contaminação fúngica. A implementação dessas estratégias não apenas preserva a qualidade das pesquisas, mas também promove a segurança dos laboratórios e profissionais envolvidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Preservação. Higiene laboratorial. Prevenção.

#### ABSTRACT

Fungal contamination in laboratories is a concern in various scientific and industrial fields, given the threat to biological safety and the integrity of products developed within laboratory settings. This work highlights approaches to combat fungal contamination, with a focus on preserving research quality and the safety of professionals involved. The goal was to provide strategies for preventing fungal contamination in environments where studies and work with microorganisms occur. Methods for contamination control were analyzed, and alternatives were selected to mitigate fungal contamination in a microbiology laboratory at UTFPR Ponta Grossa campus, such as the use of UV light, bench disinfection with the sanitizing agent Lysoform, and laboratory environment decontamination with peracetic acid. Nebulization with the organic sanitizing agent stands out as the most effective method against the unwanted microorganism. The review also emphasizes that the adoption of rigorous hygiene procedures, including equipment sterilization and proper use of personal protective equipment (PPE), is crucial to minimize the risk of fungal contamination. The implementation of these strategies not only preserves research quality but also promotes laboratory and professional safety.

**KEYWORDS:** Preservation. Laboratory hygiene. Prevention.

<sup>1</sup> Bolsista da Fundação Araucária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: ferwmomoli@gmail.com. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4815667790387791>

<sup>2</sup> Bolsista mestrado CNPQ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: renatamicketen@alunos.utfpr.edu.br ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8808247553040118>.

<sup>3</sup> Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: hezila@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6861698605173653>.

<sup>4</sup> Docente em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia/DAEBB/PPGBIOTEC. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. E-mail: julianavitoria@utfpr.edu.br ID Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5844979052853050>.



## 1. INTRODUÇÃO

Os laboratórios de microbiologia desempenham um papel crucial na investigação e compreensão dos microrganismos que moldam nosso mundo. Ao permitirem o estudo minucioso das interações microbianas, se tornam fontes inestimáveis de conhecimento que abrangem desde a saúde humana até os ecossistemas mais complexos. No entanto, apesar dos avanços tecnológicos e científicos, os laboratórios podem apresentar contaminações de diversas origens. Muitas vezes invisível a olho nu, as contaminações têm o potencial de comprometer seriamente a validade dos resultados e a qualidade das pesquisas conduzidas. Os fungos, com sua capacidade de proliferar rapidamente em ambientes propícios, podem alterar as condições experimentais, distorcendo os dados coletados e levando a conclusões equivocadas.

Tal contaminação pode ser especialmente devastadora em experimentos sensíveis, como culturas de células ou análises de DNA, onde a presença de microrganismos estranhos pode ter implicações drásticas. Portanto, compreender o significado das contaminações e desenvolver métodos eficazes de controle torna-se imperativo para a manutenção da integridade científica nos laboratórios de microbiologia. Este trabalho tem a proposta de explorar detalhadamente os desafios e implicações da contaminação fúngica em laboratórios de microbiologia, bem como fornecer uma análise aprofundada das estratégias e métodos que podem ser adotados para controlar essa ameaça persistente. A natureza ubíqua dos fungos e suas características adaptativas os tornam microrganismos onipresentes. Nas minúsculas esporas, viajando pelo ar e depositando-se em superfícies, os fungos encontram oportunidades para colonizar os mais diversos ambientes, incluindo laboratórios. A complexa ecologia fúngica, aliada à sua habilidade de resistir a condições desafiadoras, como variações de temperatura e umidade, faz com que os fungos sejam duros adversários nos ambientes laboratoriais, metodologia encontrada em ARRUDA (2019).

Além disso, o tráfego de pessoas e equipamento pode introduzir esporos fúngicos nos espaços de trabalho. O impacto da contaminação fúngica nos experimentos e pesquisas conduzidas em laboratórios de microbiologia é substancial e multifacetado. A presença de fungos pode resultar em experimentos falhos e inconsistentes, alterando os resultados pretendidos e levando a conclusões enganosas. Em culturas microbiológicas, a presença de contaminantes fúngicos pode suprimir ou superar o crescimento de outros microrganismos, distorcendo os dados obtidos e prejudicando a interpretação precisa dos resultados. Este trabalho abordará um estudo de caso, onde ocorreu uma contaminação severa por um *Penicillium sp.*, espécie notória por sua relevância tanto na pesquisa científica quanto na indústria, pois engloba diversas espécies notáveis. Entre elas, destaca-se o *Penicillium notatum*, fonte original da penicilina, o primeiro antibiótico identificado por Alexander Fleming em 1928, cita PEREIRA (2018). As características distintivas do gênero *Penicillium* englobam sua capacidade de reprodução por meio de esporos, de dispersão aérea facilitada, bem como sua habilidade de prosperar em variados ambientes, abrangendo desde alimentos até ambientes internos e laboratórios. Em virtude de sua ubiquidade e adaptabilidade, algumas espécies de *Penicillium* também podem atuar como agentes de contaminação em instalações laboratoriais e industriais, clarifica SANHUEZA (2008).



## 2. OBJETIVO

Este trabalho trata-se de um estudo de caso sobre uma contaminação causada por fungo da espécie *Penicillium sp* em uma coleção microbiológica localizada na Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Ponta Grossa. Tem como objetivo relatar técnicas de combate a contaminação fúngica, em especial a linhagem do fungo *Penicillium sp*, grande contaminante de ambientes laboratoriais e produtor de micotoxinas.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

**3.1 COLEÇÃO MICROBIOLÓGICA:** A coleção microbiológica é um laboratório voltado para o projeto de extensão Biodiversidade: Conhecer Para no Futuro Preservar, e está localizada na UTFPR Campus Ponta Grossa (Laboratório C-007). O projeto baseia-se na manutenção e cultivo do acervo dos mais de 300 microrganismos classificados entre fungos, leveduras e bactérias, que são utilizados com grande demanda pela comunidade acadêmica da UTFPR em geral. O laboratório se faz responsável por fornecer esses microrganismos para diversos alunos e docentes, a fim de auxiliar e angariar pesquisas e aulas práticas. A coleção microbiológica sofreu, no período de abril-junho de 2023, uma contaminação ambiental fúngica causada pela espécie *Penicillium sp*. As atividades realizadas no laboratório sofreram empecilho devido a presença indesejada e excedente do fungo, que contaminou experimentos e pesquisas geradas nesse intervalo de tempo, além de colocar em risco a saúde dos laboratoristas que trabalham no projeto.

### 3.2 ESTRATÉGIAS DE COMBATE

**3.2.1 DESCONTAMINAÇÃO DE BANCADAS POR AGENTES QUÍMICOS:** A execução sistemática da desinfecção de superfícies de trabalho, equipamentos e bancadas é uma medida de suma importância, realizada rotineiramente no laboratório. Durante o período de contaminação na Coleção Microbiológica, esse procedimento foi intensificado. A utilização de agentes desinfetantes reconhecidos, tais como álcool 70%, peróxido de hidrogênio, quaternário de amônia e sanitizante a base de cloreto de cocobenzil alquil dimetil amônio/cloreto de didecil dimetil amônio (Lysoform), desempenhou um papel de grande importância na minimização de esporos fúngicos e microrganismos indesejáveis.

**3.2.2 DESCONTAMINAÇÃO APÓS AJUSTE DE TEMPERATURA DA ESTUFA:** A manutenção de um ambiente controlado é essencial. A temperatura e umidade devem ser mantidas dentro de faixas ideais para evitar o crescimento fúngico. Na coleção microbiológica, a estufa utilizada para crescimento de fungos sofreu alteração em sua temperatura. Originalmente mantida a 27 graus celsius, passou a abonar a temperatura de 40 graus celsius, evitando a germinação de linhagens fúngicas no equipamento por meio da desidratação da alta temperatura.

**3.2.3 DESCONTAMINAÇÃO DA CÂMARA DE FLUXO LAMINAR POR LUZ UV:** A radiação ultravioleta na faixa UV-C (200-280 nm) apresenta propriedades germicidas que



podem ser utilizadas para controlar a contaminação fúngica. A radiação UV-C interage diretamente com o DNA dos microrganismos, causando danos nas ligações químicas e impossibilitando a replicação e a sobrevivência. Esse mecanismo de ação é eficaz contra uma ampla gama de microrganismos, incluindo fungos, e foi utilizado com frequência na câmara de fluxo laminar, equipamento com ambiente limpo e controlado, onde os microrganismos são repicados diariamente. A luz UV é utilizada de forma rotineira no laboratório, sendo ligada por 15 minutos antes do início dos trabalhos e 15 minutos ao final. No período da detecção da contaminação ambiental foram adotados períodos mais extensos, que variaram entre 8 a 24 horas na câmara vazia.

**3.2.4 NEBULIZAÇÃO COM SANITIZANTE:** A nebulização é uma técnica que se baseia na difusão do agente sanitizante em uma fina névoa pelo ambiente, promove uma maior uniformidade na cobertura do agente sanitizante, garantindo descontaminação de locais com difícil acesso. Foi utilizada em dois ciclos de 24 horas no laboratório C-007, visando uma dispersão mais uniforme e prolongada do agente sanitizante no ambiente.

### 3.3 MONITORAMENTO AMBIENTAL

O monitoramento contínuo e a detecção da contaminação ambiental são componentes cruciais para garantir a qualidade e a confiabilidade das pesquisas realizadas em laboratórios de microbiologia. Durante o período de abril a junho de 2023, foram realizadas semanalmente análises da qualidade microbiológica do ar do laboratório através da técnica de exposição das placas de petri, com o objetivo de isolar os microrganismos causadores da contaminação ambiental.

Para a análise foram utilizadas placas de petri contendo meio de cultura BDA, onde foram abertas deixando o meio de cultura exposto por 15 minutos em locais estratégicos, sendo eles: dentro do fluxo laminar, estufas e superfícies de bancadas, permitindo que partículas e esporos se depositassem. Logo após a exposição, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 27 graus celsius por 5 dias. Foi observado o crescimento fúngico nas placas, a massa microbiana desenvolvida foi submetida à técnica de microcultivo de fungos filamentosos, a fim de identificar a espécie e morfologia do contaminante, além de uma estimativa da carga microbiana do ambiente.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O impacto da contaminação laboratorial pode ser muito profundo na reprodutibilidade dos resultados de pesquisas. Experimentos contaminados podem levar a variações imprevistas nos dados, resultando em conclusões equivocadas e inviabilizando a replicação dos resultados. Isso não apenas compromete a credibilidade da pesquisa, mas também pode levar ao desperdício de recursos e tempo. A transparência em relação aos métodos de controle de contaminação utilizados é fundamental para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos. Após o período de abril-junho de 2023, realizando as técnicas de combate a contaminação fúngica já citadas anteriormente, a espécie contaminante de *Penicillium sp* foi mitigada e a eficiência de cada método analisada.



5.1 DESCONTAMINAÇÃO DE BANCADAS POR AGENTES QUÍMICOS: A desinfecção das bancadas com agentes sanitizantes, em especial Lysoform e quaternário de amônia, foi a primeira estratégia utilizada, e apresentou resultados medianos na erradicação de crescimento e esporulação fúngica, pois minimizou o crescimento de *Penicillium sp.*, entretanto não o eliminou. Essa metodologia é compatível com a utilizada por BLACK (2021).

5.2 DESCONTAMINAÇÃO APÓS AJUSTE DE TEMPERATURA DA ESTUFA: A estratégia física de aumento da temperatura da estufa para a temperatura de 40 graus celsius teve resultado positivo. A germinação do fungo contaminante foi evitada dentro do equipamento. Entretanto, de acordo com o monitoramento contínuo, a contaminação fúngica dentro do laboratório ainda persistia, necessitando do terceiro método de combate. O método do ajuste de temperatura foi inspirado em VARESCHE (2023).

5.3 DESCONTAMINAÇÃO DA CÂMARA DE FLUXO LAMINAR POR LUZ UV: A irradiação de luz UV na câmara de fluxo laminar apresentou resultado mediano, por se tratar de um procedimento rotineiro e de controle preventivo no laboratório não foi suficiente para evitar que o fungo continuasse o processo de esporulação dentro do equipamento. Portanto, o uso do quarto método foi de extrema necessidade. Metodologia de acordo com SALVATIERRA (2019).

5.4 NEBULIZAÇÃO COM SANITIZANTE: A nebulização com o produto desinfetante de ácido peracético apresentou resultado positivo e de extrema eficiência, pois mitigou quase que completamente a esporulação do *Penicillium sp.* no ambiente laboratorial da Coleção Microbiológica.

Para que a metodologia seja realizada com eficiência, é necessário que os pesquisadores tenham responsabilidade em adotar práticas rigorosas de biossegurança e seguir protocolos de controle de contaminação. Isso envolve o uso adequado de equipamentos de proteção individual (EPIs), manutenção de áreas de trabalho e adesão a procedimentos operacionais padrão. A educação contínua sobre práticas seguras e a conscientização sobre os riscos associados à contaminação fúngica são essenciais para evitar a introdução e disseminação de esporos fúngicos no ambiente de trabalho.

## 6. CONCLUSÃO

Em conclusão, a contaminação fúngica em laboratórios de microbiologia é um desafio constante que pode afetar negativamente a qualidade das pesquisas e a segurança dos profissionais envolvidos. Neste estudo de caso, foram exploradas várias estratégias para combater a contaminação em uma coleção microbiológica, incluindo desinfecção de bancadas, manutenção de ambientes controlados, nebulização com ácido peracético e uso de luz UV. Além disso, foi possível analisar a eficácia variável dos métodos na mitigação da contaminação, destacando a importância da abordagem multifacetada. Também foi ressaltada a responsabilidade dos pesquisadores na prevenção da contaminação, incluindo a adoção de práticas rigorosas de biossegurança e a transparência em relação aos métodos de controle de contaminação. Em última análise, a prevenção da contaminação fúngica não apenas preserva a qualidade das pesquisas, mas também protege a integridade ética da pesquisa e a segurança dos profissionais de



laboratório. Continuar a buscar melhores práticas e estar ciente dos riscos associados à contaminação fúngica é essencial para manter um ambiente de trabalho seguro e confiável em laboratórios de microbiologia.

## Agradecimentos

Agradeço imensamente a Doutora Professora Juliana Vitória Messias Bittencourt por toda orientação, a Doutora Mariana Fidelis por toda a apoio em microbiologia, a UTFPR Ponta Grossa e a Fundação Araucária pela disponibilização da bolsa que angariou minha pesquisa.

## Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA, Adriana Dias. Micotoxinas e seus efeitos à saúde humana: revisão de literatura, 2019. Acesso em 22 agosto 2023

BANDEIRA, Isabela Barros et al. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PRESENTES EM SUPERFÍCIES DE TECLADOS E MOUSES DE UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR, CE. 2017. Acesso em 23 agosto 2023.

BARBOSA, Gislayne da Silva et al. Análise da temperatura, umidade e contaminação fúngica das áreas de armazenamento e preparo de alimentos em unidades de alimentação e nutrição. 2018. Acesso em 22 agosto 2023.

BLACK, Jacquelyn G. Microbiologia: fundamentos e perspectivas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021. Acesso em: 18 set. 2023.

PEREIRA, Ana Leonor; PITA, João Rui. Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao prémio Nobel (1945). **História: revista da Faculdade de Letras da Universidade do Porto**, v. 6, 2018. Acesso em 13 set 2023.

PÉREZ-UZ, Blanca et al. Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. **Redução (Biología)**, v. 3, n. 5, 2011. Acesso em: 16 set 2023.

SALVATIERRA, Clabijo Mérida. Microbiologia: aspectos morfológicos, bioquímicos e metodológicos. São Paulo: Erica, 2019. Acesso em: 18 set. 2023.

SANHUEZA-Revista-da-Maca-V2-N8-P16-18-2008. Acesso em 22 agosto 2023.

VARESCHE, Maria Bernadete: METABOLISMO E FATORES QUE INTERFEREM NO CRESCIMENTO MICROBIANO. 2023. Acesso em 22 agosto 2023