



XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz

Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder

04 a 07 de novembro de 2024

São Paulo/SP

e40706

• Coleções Biológicas

Padronização de duas metodologias rápidas para verificação da ausência de micoplasmas em culturas celulares

Ana Cristina Scarparo de Miranda , Tamiko Ichikawa Ikeda , Aurea Silveira Cruz Garçon* 

Núcleo de Cultura de Células, Centro de Procedimentos Interdisciplinares, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor de correspondência: cultcel@ial.sp.gov.br

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

Os micoplasmas são um grupo de bactérias muito pequenas (aproximadamente 0,2 μm), que não apresentam parede celular, não causam turvação do meio de cultura e pertencem à classe *Mollicutes*. Devido a essas particularidades, podem contaminar facilmente as linhagens celulares, permanecendo despercebidos enquanto alteram suas características e comprometem os resultados obtidos com elas, motivo pelo qual são considerados um grande vilão. Este risco de contaminação é eliminado com a utilização de técnicas assépticas rigorosas em todas as etapas de manutenção das culturas, além de realizar testes para comprovar sua ausência. O Núcleo de Cultura de Células do Instituto Adolfo Lutz (NCC-IAL) verifica periodicamente a ausência de micoplasmas de suas linhagens por PCR em tempo real, em colaboração com o Laboratório Estratégico do IAL. Porém, as normas internacionais recomendam a utilização de mais de um ensaio, devido às limitações inerentes de cada um. O objetivo desse trabalho foi padronizar e implantar dois métodos rápidos para essa finalidade na sua rotina, o da coloração fluorescente por Hoechst e o de bioluminescência. Na coloração por Hoechst foi utilizada a linhagem Vero, como indicadora, facilitando a visualização de micoplasmas, como pequenos pontos fluorescentes entre os núcleos celulares, mesmo com baixo nível de contaminação. Esse teste requer uma cultura comprovadamente contaminada, usada como controle positivo. Já a técnica de bioluminescência é realizada com auxílio de um luminômetro e o kit MycoAlert, disponível comercialmente. Esse ensaio tem a vantagem de possuir um controle positivo livre de micoplasmas vivos, dispensando a necessidade de manipular uma cultura contaminada no laboratório, além de fornecer resultado imediato. Essas metodologias garantem a comprovação da ausência de micoplasmas no acervo do NCC-IAL, o que é essencial para uma coleção de linhagens celulares.

Palavras-chave. Mycoplasma, Linhagens Celulares, Técnicas de Cultura de Células.

Comitê de Ética: Não declarado pelos autores.