

Título: Microscópio digital e lâminas histológicas para escolas da rede pública de ensino- III

Proponente: Dânia Emi Hamassaki

Depto. Biologia Celular e do Desenvolvimento/ ICB/USP

1) Resumo

O Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do ICB/USP tem atuado por meio de seu corpo docente em projetos que têm como público-alvo alunos e professores do ensino fundamental, médio e técnico. Nosso objetivo é continuar a desenvolver e confeccionar kits de microscópios de baixo-custo, juntamente com lâminas histológicas para serem distribuídos gratuitamente para escolas da rede pública de ensino.

Na fase III deste projeto, pretendemos finalizar os kits que não puderam ser confeccionados em virtude da pandemia e acrescentamos a produção de vídeos curtos sobre a Histologia dos diferentes órgãos contidos neste kit e outros adicionais. Os vídeos constituem uma alternativa interessante, principalmente considerando a possibilidade de não ocorrer um retorno das atividades presenciais no segundo semestre.

Espera-se com este projeto fornecer oportunidades para o graduando contribuir diretamente com o ensino na rede pública por meio dos kits, desenvolver sua capacidade criativa na elaboração de microscópios de baixo-custo, além de ampliar seus conhecimentos em Biologia Tecidual via confecção de lâminas histológicas e produção de vídeos.

2) Justificativa:

Apesar de lâminas histológicas já terem sido distribuídas gratuitamente pelo nosso Departamento para a rede pública de ensino, muitas das escolas não possuem microscópios para a visualização desses preparados. Dessa forma, o presente projeto pretende preencher esta lacuna, fornecendo lâminas, e microscópios de baixo custo. Além disso, vídeos explicativos sobre a histologia de diferentes órgãos serão produzidos, principalmente caso não haja retorno para as atividades presenciais.

O projeto conta com a colaboração do prof. Paulo Abrahamsohn (idealizador do MOL- Histologia Interativa Online) e outros docentes diretamente envolvidos com o Setor de Técnicas Histológicas e/ou curso de Microscopia no Encontro USP-Escola (Fernanda Ortis e Vanessa Moraes Freitas), impressão 3D para o ensino de Biologia Celular e Tecidual (Fábio Siviero), além do apoio técnico de Gisela Ramos Terçarioli e Kelliton José Mendonça Francisco.

3) Resultados Anteriores

Este projeto está sendo desenvolvido pela bolsista Daniely Soares Lino Kertesz desde 2019 (Edital PUB 2019-2020, 2020-2021). No período foram confeccionados 30 kits, contendo 10 lâminas histológicas com diferentes órgão (pulmão, fígado, gordura, rim, testículo, ovário, esofago/traquéia, pele, língua e intestino delgado) totalizando 300 lâminas.

Foi desenvolvido também um protótipo de microscópio para impressão 3D com a colaboração de Daniel Kertesz Alves (Tecnólogo em Sistemas Biomédicos), utilizando lentes de oculares e de objetivas de microscópios que não estavam mais sendo utilizados no Departamento. Para isso foi utilizado o programa Inventor e adaptado individualmente para cada lente, considerando os diferentes diâmetros de cada uma. No total foram feitos cerca de 30 arquivos STL (formato de impressão) para a confecção de 30 microscópios que serão entregues juntos com os kits. A Figura abaixo ilustra as etapas desde o desenvolvimento do arquivo STL até o microscópio pronto.

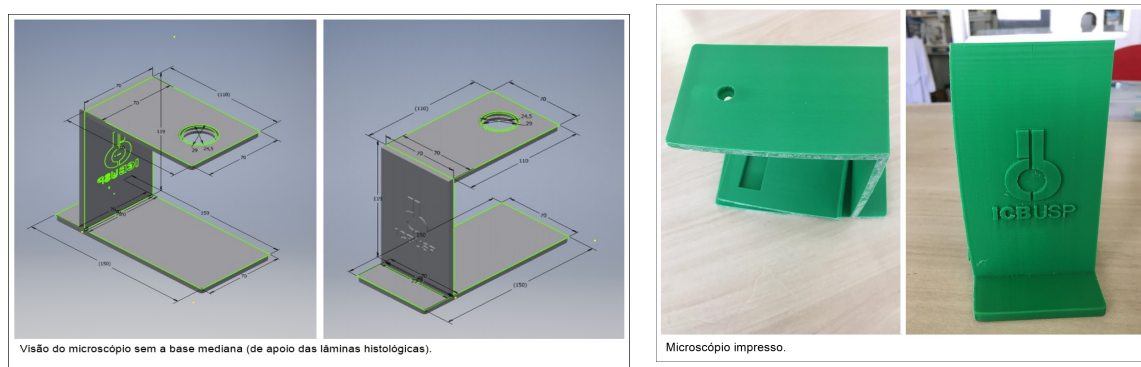


Figura 1 – Protótipo de microscópio para impressão 3D.

No entanto, com as atividades presenciais interrompidas durante o período da pandemia, não foi possível até o momento retornar ao laboratório e confeccionar microscópios e mais kits. Assim, o projeto foi reestruturado para elaboração de um microscópio caseiro confeccionado a partir de papelão e uma lente confeccionada a partir de garrafa PET.

A criação da lente para o microscópio caseiro reciclável foi inspirada no vídeo do canal no YouTube “Manual do Mundo” intitulado: “como fazer uma lente de aumento em casa” - https://www.youtube.com/watch?vIgGO_82eBsAI. Com o

objetivo de garantir sua melhor adequação ao microscópio e o maior aproveitamento da garrafa PET foram realizadas algumas adaptações à lente, como acrescentar o bocal da garrafa em sua construção. A adição do bocal à lente permite seu encaixe e remoção do microscópio sem causar danos à estrutura do papelão.

Como mencionado anteriormente, a estrutura física do microscópio é composta principalmente por papelão, material de baixo custo, disponível e sustentável. Outros materiais básicos incluem folha de sulfite, régua, caneta, tesoura, estilete, cola e garrafa PET.

Na Figura 2 é possível ver o microscópio desmontado no plano e suas dimensões, que não ultrapassam uma folha A4.

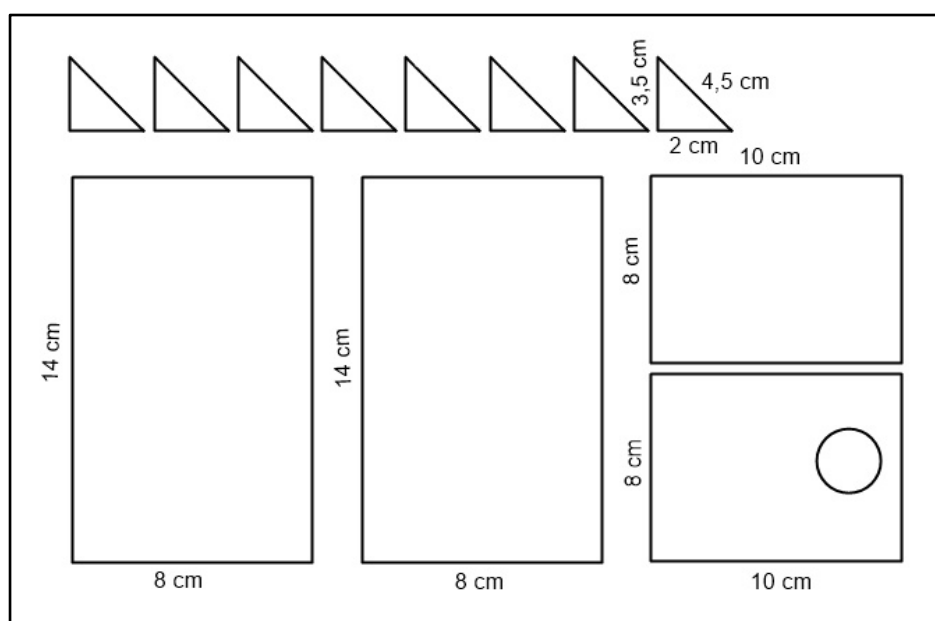


Figura 2 - Microscópio de material reciclado desmontado no plano.

Além disso, foi produzido um vídeo sobre “Como produzir um microscópio caseiro com materiais recicláveis”. Este vídeo foi gravado no estilo tutorial

ensinando como fazer o microscópio à medida em que ele ia sendo montado. O vídeo foi gravado em várias etapas utilizando a câmera de um celular apoiada sobre um tripé e as etapas da gravação foram editadas no programa Wondershare Filmora 9.

O microscópio caseiro reciclável se mostrou uma opção para a visualização dos órgãos presentes nas lâminas. A qualidade da lente é um ponto extremamente crítico e deve ser melhorada, visto que não permite um grande aumento, apesar de a ferramenta zoom do celular auxiliar na visualização global do órgão.

A Fig. 3 ilustra o microscópio, e as Figs. 4 e 5, os aumentos que ele proporciona sozinho ou acoplado ao microscópio.

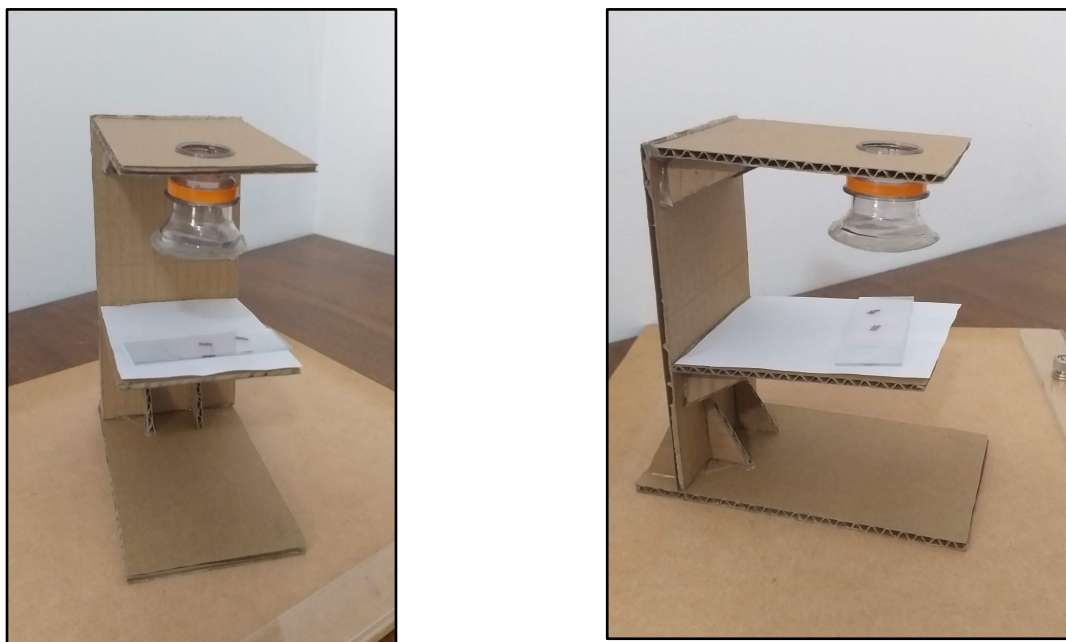


Figura 3 - Microscópio de material reciclado

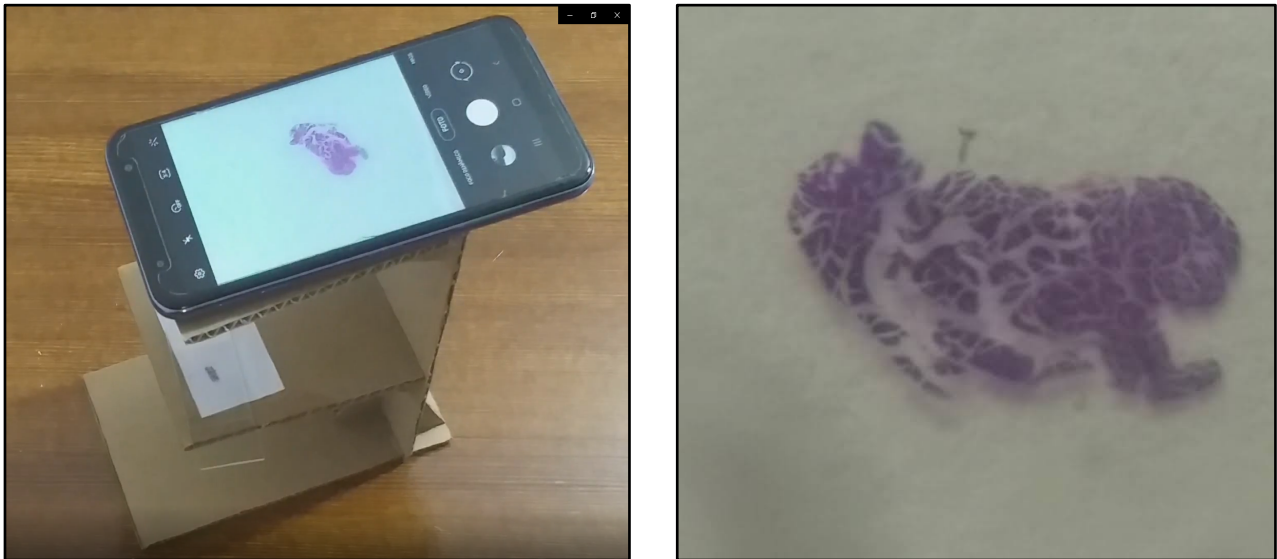


Figura 4- Visualização de pâncreas de camundongo no microscópio.

4) Objetivos

- Prosseguir com o desenvolvimento e confecção de kits de microscópios caseiros de baixo-custo e lâminas histológicas para servirem de apoio para aulas de Ciências em escolas da rede pública.
- Elaboração de vídeos curtos, descrevendo as principais características microscópicas de diferentes órgãos e tecidos para divulgação visando alunos do ensino médio.

5) Métodos

A partir do acervo de blocos histológicos do Setor de Técnicas Histológicas do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, o bolsista irá confeccionar uma Coleção Didática para estudo e observação da estrutura dos tecidos fundamentais. Para permitir a análise dos tecidos ao microscópio de luz, eles devem ser seccionados em fatias finas e uniformes (de 3 a 7µm) as quais serão obtidas com o auxílio de um micrótomo. Para esse trabalho será necessário um treinamento, tendo em vista as diferenças e diversas características de cada tecido que será coletado para construir a coleção Didática. Após obtenção das fitas no micrótomo, os cortes deverão ser transferidos para uma cuba contendo solução alcoólica 30%, submetidos a etapa de distensão dos cortes em banho-maria histológico contendo água destilada (45°C) e montagem das lâminas histológicas. Os cortes serão colhidos em lâminas previamente tratadas com poli-L-lisina (Sigma Aldrich) e incubados em estufa a 60°C por 1 hora. As lâminas contendo os tecidos cujos componentes morfológicos são usualmente incolores e dificilmente poderão ser visualizados no microscópio de luz, serão submetidos a etapa de coloração fundamental para exibição das estruturas morfológicas gerais do tecido.

O método que será realizado é a técnica da Hematoxilina-Eosina (H&E) um dos mais utilizados em Histologia por ser relativamente simples de ser desenvolvido. A Hematoxilina é um corante azul arroxeado tem atração por substâncias ácidas (basófilas) dos tecidos, como os núcleos e o retículo endoplasmático rugoso e ácidos nucleicos. A Eosina por sua vez é um corante rosa avermelhado, sendo ácida, cora predominantemente o citoplasma, as fibras de colágeno e outras estruturas compostas por substâncias com caráter básico (acidófilas). Contudo a técnica de H&E é bastante genérica e não distingue de maneira específica os

diversos componentes celulares, sendo necessárias técnicas especiais. Importante ressaltar que sendo um corante aquoso é necessária a retirada de toda parafina do tecido bem como hidrata-lo. Esse procedimento é realizado mergulhando a lâmina em xilol (desparafinização) e depois série alcoólica decrescente até chegar a água destilada (hidratação) e assim corada pela técnica de H&E. Para montagem permanente da lâmina utiliza-se uma resina líquida miscível em xilol, que será colocada sobre o corte, entre a lâmina e a lamínula. Assim sendo, será necessário percorrer o caminho inverso, realizando a desidratação do material e uma imersão final em xilol.

Para confecção de microscópios de baixo-custo serão utilizados os arquivos STL já produzidos até o momento, assim como podem ser testados outros modelos que utilizem material reciclado para serem apresentados durante Cursos de treinamento e capacitação de professores do ensino público. No modelo desenvolvido por Kenji Yoshino (<https://makezine.com/projects/smartphone-microscope/>) são utilizadas placas de acrílico, parafusos, arruelas e porcas, de maneira que um celular adaptado com uma lente é disposto na placa de acrílico superior e a lâmina com a amostra é colocada na placa de acrílico inferior. A proposta é que o kit a ser distribuído para as escolas conste dessa estrutura de suporte e lente, sem o celular.

6) Detalhamento das atividades a serem desenvolvidas pelo(s) bolsista(s).

O bolsista entrará em contato com as atividades diárias de um laboratório, aprendendo desde noções básicas de biossegurança e boas práticas de laboratório, a orientação para preparo de amostras biológicas para microscopia de luz.

Atividades

-processamento das amostras em parafina, microtomia e coloração das lâminas que farão parte do kit.

-confecção de microscópios caseiros de baixo-custo a partir de modelos existentes na literatura.

-participação em Cursos de treinamento e capacitação de professores do ensino público.

-produção de vídeos curtos e divertidos sobre a Histologia de diferentes órgãos para alunos de ensino médio.

7) **Resultados previstos e indicadores de avaliação**

Com este projeto esperamos criar condições para que o bolsista entre em contato com um laboratório de pesquisa, adquirindo conhecimento para obtenção e confecção dos preparados histológicos, do instrumento de análise e da Histologia dos diferentes órgãos . Os resultados contribuirão para a formação do bolsista, assim como de todos aqueles que se beneficiarão dos kits distribuídos e dos vídeos disponibilizados.

8) **Cronograma de execução**

Setembro-Fevereiro:

- Participação nos Cursos online:

- ✓ Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório do ICB
- ✓ Armazenamento, Manipulação e Descarte de Resíduos Químicos
- ✓ Uso de Animais para Experimentação
- Preparação de vídeos sobre a Histologia de diferentes órgãos

Março- Agosto

- Confecção dos microscópios (n=30)
- treinamento técnico sobre o preparo de amostras biológicas para microscopia de luz.
- Preparação das lâminas histológicas (caixas com 10 lâminas cada)
- ✓ microtomia dos tecidos incluídos em parafina
- ✓ coloração das lâminas que farão parte do kit
- análise das lâminas em microscópio de luz
- participação em Cursos de treinamento e capacitação de professores do ensino público
- entrega dos kits para os representantes das escolas

É importante mencionar que as atividades foram planejadas para se adequarem às condições da pandemia. Assim, embora algumas atividades sejam necessariamente presenciais (impressão de microscópio 3D, preparação e análise das lâminas) e dependam da reabertura da universidade para esse tipo de trabalho, outras podem ser realizadas à distância (cursos online e preparação de vídeos).