

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

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. Este projeto tem como objetivo desenvolver e confeccionar kits de microscópios caseiros de baixo-custo, juntamente com lâminas histológicas para serem distribuídos gratuitamente para escolas da rede pública de ensino.

Espera-se com este projeto fornecer oportunidades para o graduando contribuir diretamente com o ensino na rede pública por meio desses 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.

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, além das lâminas, microscópios de baixo custo.

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 (Carolina Beltrame Del Debbio, Fernanda Ortiz, Sérgio Ferreira de Oliveira e Vanessa Moraes Freitas), além do apoio técnico de Gisela Ramos Terçarioli e Fernanda Angela Correia Barrence.

3) Objetivos

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.

4) Métodos

A partir do acervo de blocos histológicos do Setor de Técnicas Histológicas do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, os alunos irão 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 poly-L-lisine (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 testados modelos a partir daquele desenvolvido, por exemplo, por Kenji Yoshino (<https://makezine.com/projects/smartphone-microscope/>), que possibilita um aumento de cerca de 175x. Neste modelo, são utilizados 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.

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

Os bolsistas entrarão 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.

Bolsista 1

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

Bolsista 2

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

6) Resultados previstos e indicadores de avaliação

Além de receber o treinamento básico de um laboratório de pesquisa, espera-se que os bolsistas adquiram conhecimento necessário para obtenção e

confeção dos preparados histológicos, assim como do próprio instrumento de análise. Sem dúvida, os resultados contribuirão para a formação dos alunos bolsistas e também daqueles que se beneficiarão dos kits distribuídos.

7) Cronograma de execução

A) Bolsista 1

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
- treinamento técnico sobre o preparo de amostras biológicas para microscopia de luz.
- Preparação das lâminas histológicas
 - ✓ microtomia dos tecidos incluídos em parafina
 - ✓ coloração das lâminas que farão parte do kit
- análise das lâminas em microscópio de luz

Março- Agosto

- Preparação das lâminas histológicas
 - ✓ 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

B) Bolsista 2

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
- treinamento técnico sobre o preparo de amostras biológicas para microscopia de luz.
- Pesquisa bibliográfica para desenvolvimento do protótipo de microscópio a ser utilizado.
- Teste com diferentes materiais, especialmente recicláveis, para a confecção do microscópio.

Março- Agosto

- Confecção dos microscópios (n=30)
- 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