

# **MATERIAL PARA ESTUDO – AULAS PRÁTICAS DO LABORATÓRIO DE CIÊNCIAS**

**1º ANO – A,B e C**

**Professor: Marcelo Almeida**

Assuntos: Biossegurança, microscopia e vidrarias de laboratório.

## **Biossegurança**



A biossegurança pode ser definida como um conjunto de medidas que busca minimizar os riscos inerentes a uma determinada atividade. Esses riscos não são apenas aqueles que afetam o profissional que desempenha uma função, e sim todos aqueles que podem causar danos ao meio ambiente e à saúde das pessoas.

A biossegurança preocupa-se com as instalações laboratoriais, as boas práticas em laboratório, os agentes biológicos aos quais o profissional está exposto e até mesmo a qualificação da equipe de trabalho. Isso é importante porque, nesses locais, existe a frequente exposição a agentes patogênicos, além, é claro, de riscos físicos e químicos.

Apesar de muitos profissionais considerarem a biossegurança como normas que dificultam a execução de seu trabalho, são essas regras que garantem a saúde do trabalhador e do restante da população. O não cumprimento das normas básicas de biossegurança pode acarretar problemas como transmissão de doenças e até mesmo epidemias.

Uma das principais normas de biossegurança em hospitais, clínicas e laboratórios diz respeito à higienização das mãos. Elas sempre devem ser lavadas antes do preparo e da ministração de medicamentos e do manuseio do paciente. Apesar de simples, essa é uma das medidas que mais evitam a propagação de doenças.

Os profissionais de saúde também devem ficar atentos aos seus equipamentos de proteção (EPI-EQUIPAMENTO DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL, EPC-EQUIPAMENTO

DE PROTEÇÃO COLETIVA), tais como jalecos e aventais, que devem ser usados apenas no local de trabalho e nunca em áreas públicas ou mesmo refeitórios e copas no interior da unidade de saúde. Além disso, é importante não abraçar pessoas ou carregar bebês utilizando jalecos, uma vez que existe o risco de contaminá-los.

Apesar de ser uma recomendação conhecida por todos os profissionais da saúde, é muito comum observar essas pessoas utilizando jalecos em áreas públicas e transportando-os de maneira inadequada. Isso pode ocasionar o transporte de agentes patogênicos para fora das unidades de saúde, causando doenças na população. Um ponto importante e que merece destaque é a propagação de bactérias resistentes, que normalmente são encontradas restritas ao ambiente hospitalar, porém podem ser facilmente levadas até a população em virtude da falta de conhecimento dessas normas de biossegurança.

As luvas também são um dos equipamentos de proteção que merecem destaque. Elas devem ser usadas sempre que necessário e trocadas após cada procedimento. Após a remoção, é fundamental dar a destinação correta a esse material, assim como a todos os materiais que tiveram contato com material biológico. O descarte correto é extremamente importante para a segurança de todos.

Os profissionais de saúde estão expostos frequentemente a material biológico, por isso os riscos de contaminação podem ser altos a depender da atividade realizada. Os acidentes com esses profissionais geralmente envolvem ferimentos com agulhas ou outro material cortante e contato direto com sangue ou materiais contaminados. Dentre os mais envolvidos com esses acidentes, destacam-se os profissionais de enfermagem.

Diante da exposição frequente a agentes patogênicos, recomenda-se que os profissionais de saúde mantenham atualizadas suas carteiras de vacinação. As vacinas são umas das melhores formas de prevenção contra doenças infecciosas.

É importante frisar que qualquer acidente ocorrido com os profissionais da saúde durante o desenvolvimento de sua atividade é considerado um acidente de trabalho. Em casos de acidentes com material biológico, é importante lavar o local de contato ou a lesão e notificar a chefia imediata, que analisará o acidente. Essa análise observará qual material biológico esteve envolvido e como ocorreu o acidente. Posteriormente, será observado se o material pode ou não transmitir HIV e hepatites. Se for esse o caso, será necessária a realização de uma quimioprofilaxia. Após esse momento, ocorrerá o seguimento clínico laboratorial apropriado.

Há a importância de se ter POPs- Procedimentos Operacionais Padrão, que são protocolos em que se descrevem detalhadamente as atividades realizadas no laboratório, desde o preparo de amostras, dando ênfase ao uso dos equipamentos, procedimentos técnicos e as atitudes a serem tomadas em caso de acidentes. Outro documento importante é o **MANUAL DE BIOSSEGURANÇA** que trata da identificação dos riscos, especificação das práticas, procedimentos para eliminação de riscos.

## **TIPOS DE RISCO RELACIONADOS A BIOSSEGURANÇA**

(Portaria do Ministério do Trabalho, MT no. 3214, de 08/06/78)

- 1. RISCOS DE ACIDENTES** Considera-se risco de acidente qualquer fator que coloque o trabalhador em situação de perigo e possa afetar sua integridade, bem estar físico e moral. São exemplos de risco de acidente: as máquinas e equipamentos sem proteção, probabilidade de incêndio e explosão, arranjo físico inadequado, armazenamento inadequado, etc.
- 2. RISCOS ERGONÔMICOS** Considera-se risco ergonômico qualquer fator que possa interferir nas características psicofisiológicas do trabalhador causando desconforto ou afetando sua saúde. São exemplos de risco ergonômico: o levantamento e transporte manual de peso, o ritmo excessivo de trabalho, a monotonia, a repetitividade, a responsabilidade excessiva, a postura inadequada de trabalho, o trabalho em turnos, etc.
- 3. RISCOS FÍSICOS** Consideram-se agentes de risco físico as diversas formas de energia a que possam estar expostos os trabalhadores, tais como: ruído, vibrações, pressões anormais, temperaturas extremas, radiações ionizantes, radiações não ionizantes, ultra-som, materiais cortantes e ponteados, etc.
- 4. RISCOS QUÍMICOS** Consideram-se agentes de risco químico as substâncias, compostas ou produtos que possam penetrar no organismo pela via respiratória, nas formas de poeiras, fumos, névoas, neblinas, gases ou vapores, ou que, pela natureza da atividade de exposição, possam ter contato ou ser absorvido pelo organismo através da pele ou por ingestão.
- 5. RISCOS BIOLÓGICOS** Consideram-se agentes de risco biológico as bactérias, fungos, parasitos, vírus, entre outros.

**Curiosidade:** Um exemplo clássico de despreparo em relação à biossegurança foi o acidente com Césio 137, em que um aparelho de radioterapia foi abandonado em uma clínica desativada. O descarte inadequado causou consequências graves à população goianiense que ficou exposta à radiação.

# SIMBOLOGIA



Material corrosivo



Material radioactivo



Material tóxico

# SIMBOLOGIA



Proteção obrigatória  
para os pés



Proteção obrigatória para  
as mãos



Uso obrigatório de  
máscara integral



Uso obrigatório de  
óculos de proteção

# SIMBOLOGIA



Explosivo



Inflamável



Proibido fumar



Extintor

## LAVA OLHOS E CHUVEIRO DE SEGURANÇA



# UNIFORMES



# CABELOS



# CABELOS E ROSTO

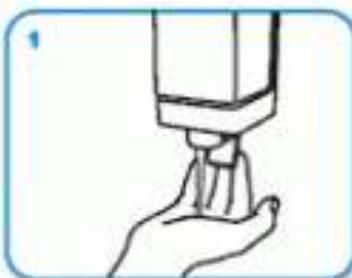




# LAVAGEM DAS MÃOS



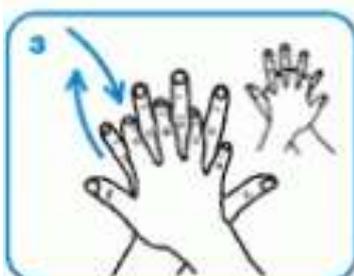
**0**  
Molhe as mãos com água



**1**  
Cubra as mãos com a espuma do sabão



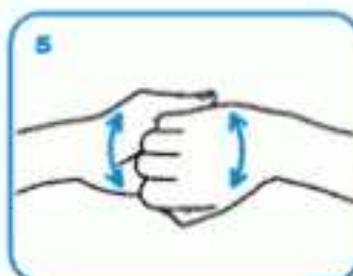
**2**  
Esfregue bem as palmas



**3**  
Esfregue o dorso com a palma das mãos.



**4**  
Lave as palmas com os dedos entrelaçados



**5**  
Esfregue a base dos dedos nas palmas das mãos



**6**  
Limpe o polegar esquerdo com a palma da mão direita e vice-versa



**7**  
Esfregue novamente as palmas das mãos com a ponta dos dedos



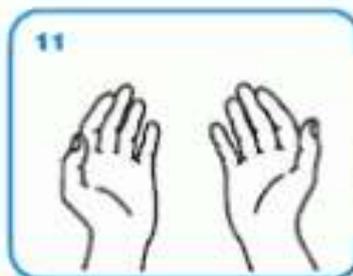
**8**  
Enxague todo o sabão



**9**  
Enxague as mãos com uma toalha descartável



**10**  
Use esta mesma toalha para desligar a torneira



**11**  
Pronto, suas mãos estão completamente limpas!

## MICROSCOPIA

**Microscopia:** Com o avanço da tecnologia e a conseqüente invenção do microscópio, pudemos finalmente observar as unidades estruturais e funcionais dos organismos vivos — a célula.

Desde então, estes avanços permitiram que a biologia desse um enorme salto. Principalmente após a invenção do microscópio eletrônico, com potencial de aumento muito superior ao ótico.



### Microscópio ótico

O microscópio é um instrumento ótico com capacidade de ampliar imagens de objetos muito pequenos graças ao seu poder de resolução. Este pode ser composto ou simples: microscópio composto tem duas ou mais lentes associadas; microscópio simples é constituído por apenas uma lente células.

Acredita-se que o microscópio tenha sido inventado em 1590 por Hans Janssen e seu filho Zacharias, dois holandeses fabricantes de óculos. Tudo indica, porém, que o primeiro a fazer observações microscópicas de materiais biológicos foi o neerlandês Antonie van Leeuwenhoek (1632 – 1723). Serve-se especialmente para os cientistas, que utilizam este instrumento para estudar e compreender os micro-organismos.

Os microscópios de Leeuwenhoek eram dotados de uma única lente, pequena e quase esférica. Nesses aparelhos ele observou detalhadamente diversos tipos de material biológico, como embriões de plantas, os glóbulos vermelhos do sangue e os espermatozoides presentes no sêmen dos animais.

Foi também Leeuwenhoek quem descobriu a existência dos micróbios, como eram antigamente chamados os seres microscópicos, hoje conhecidos como micro-organismos.

Tipos de microscópios

Os microscópios dividem-se em duas categorias principais:

**Microscópio ótico:** funciona com um conjunto de lentes (ocular e objetiva) que ampliam a imagem transpassada por um feixe de luz que pode ser:

## Microscópio de campo claro



No microscópio ótico de campo claro (MOCC), o tecido é normalmente montado entre uma lâmina de vidro e uma lamela e colocado no microscópio, na platina, para visualização. A luz da fonte é focada pelo condensador para o tecido, as lentes da objetiva recebem a luz transmitida pelo objeto e focam-na para o plano focal das lentes oculares, criando uma imagem. Alguns microscópios possuem um diafragma, que dificultam a passagem de luz, tornando a imagem mais ou menos luminosa.

### Formação da imagem

A luz é focada pelo condensador, formando um cone luminoso que atinge o objeto. A combinação da lente objetiva com a lente ocular leva à criação de uma imagem iluminada do tecido. As lentes das objetivas podem ter várias ampliações (4x, 10x, 40x e 100x), já a ocular apresenta usualmente uma ampliação de 10x. A ampliação total obtida é dada pela seguinte fórmula: ampliação total = ampliação da objetiva x ampliação da ocular. É necessário ter em atenção que a imagem final captada pelo olho está invertida em relação ao que o objeto realmente é.

### Resolução e limite de resolução

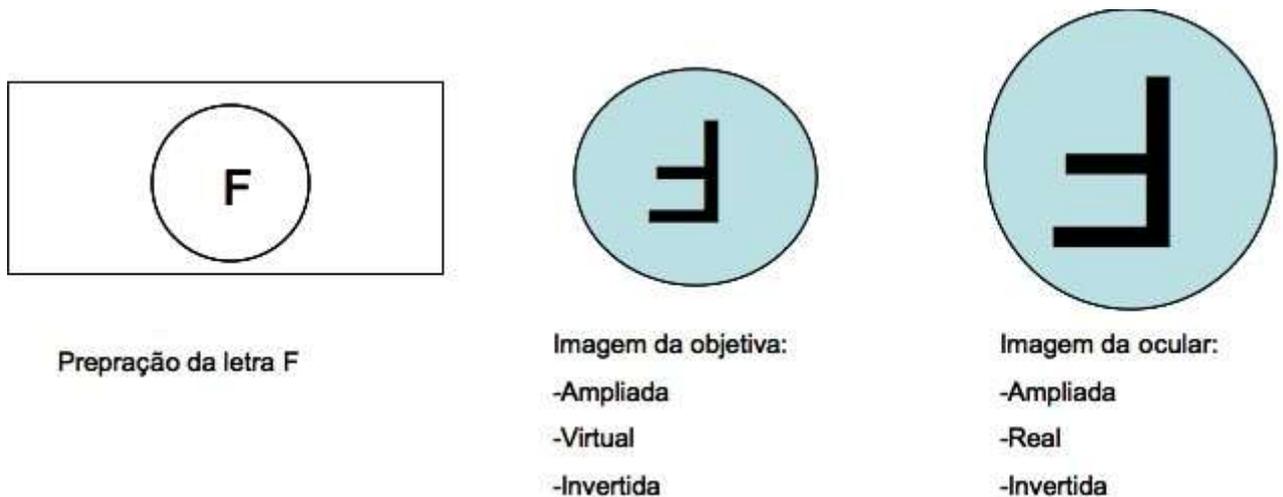
A melhor qualidade do microscópio ótico não é a ampliação, mas sim a resolução. A resolução ou poder resolvente é definida pela capacidade de distinguir dois pontos muito próximos e depende do limite de resolução, que corresponde à distância mínima entre 2 objetos distintos. Ou seja, quanto menor é essa distância, maior é o poder de resolução. A objetiva de imersão é utilizada para se obter um limite de resolução menor, isto é um maior poder de resolução. É importante ser utilizada quando se pretende obter uma elevada ampliação e, por isso, utiliza-se a objetiva de 100x. É também utilizado um óleo que possui um índice de refração igual ao do vidro, o que faz com que a luz não seja refratada quando muda de meio, não ocorrendo perdas de informação.

### Limite à observação de material biológico

A observação de células coradas é necessária para a sua visualização através do MOCC. As zonas coradas das células reduzem a amplitude da onda da luz de particular comprimento de onda que passa por ela. Assim, uma imagem colorida é obtida, permitindo a observação das células. Quando se tenta visualizar células não coradas, a onda da luz sofre pequenas alterações de amplitude e os detalhes estruturais não são visíveis, mesmo utilizando uma elevada ampliação. No entanto, a fase da onda é alterada pela passagem pela célula, podem tornar-se visíveis pequenas diferenças.

A preparação é colocada na platina e fixa com o auxílio das pinças. Com os parafusos existentes na platina move-se a preparação até esta estar sobre a abertura por onde passa a luz. Olhando através da ocular (monocular ou binocular, respectivamente com uma ou duas lentes) e com a objetiva de menor ampliação foca-se a imagem, preferencialmente no centro do campo de visão, utilizando os parafusos macrométrico e micrométrico. Após esta primeira focagem, podem-se utilizar objetivas de maior poder de ampliação, de forma sequencial repetindo todo o processo já descrito. A imagem final observada será ampliada, virtual e invertida. Dependendo do microscópio, em alguns casos, a imagem final pode ser direita e não invertida.

Por exemplo, se utilizarmos uma preparação da letra F, tal como na figura, as imagens formadas pela objetiva e pela ocular são como descritas (Fig.3).



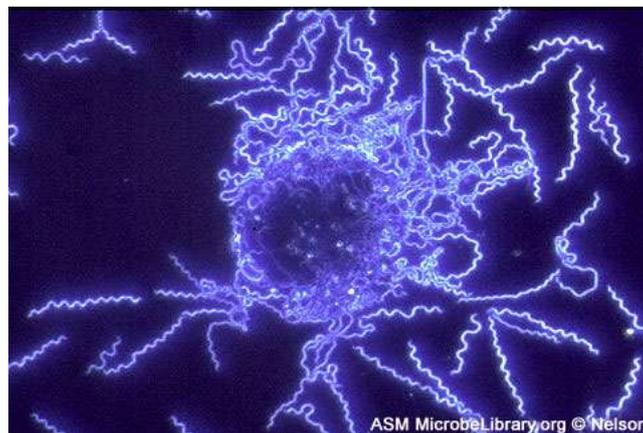
**Figura 3.** Imagens obtidas por uma lente objetiva e ocular a partir de uma preparação com a letra F.

As posições relativas da letra F são como se observariam ao microscópio.

## Microscópio de fundo escuro



Este modelo de microscópio óptico controla as luzes que contornam e são provenientes do objeto em estudo, tornando a visualização ao redor deste completamente escura, isto é, o contraste criado é de um espécime brilhante localizado em um fundo escuro. Este tipo de microscopia é ideal para revelar contornos, bordas, limites e gradientes de índice refrativo, mas não fornece um bom número de informações sobre a estrutura interna. Para conseguir seu objetivo, a técnica de microscopia de campo escuro faz uso de um tipo especial de condensador, capaz de fazer com que somente os raios luminosos que atingirem um objeto na lâmina entrem na objetiva.



## Microscópio de contraste de fase

Tem como princípio a transformação das diferentes fases dos raios de luz. A imagem formada possui pequenas alterações no comprimento do trajeto óptico, ocasionando diferenças sutis em seu contraste. A lâmpada deste microscópio é direcionada propositalmente em um ângulo especializado, fazendo-a iluminar diretamente o espécime, ou ser difratada e retardada pelos gradientes de fase desse espécime. Este tipo de microscopia é um dos únicos capazes de formar imagens que podem ser vistas

detalhadamente, sem a necessidade de as colorir. Um ponto de desvantagem na atuação deste instrumento óptico, é que na imagem formada, é comum em um contraste de fase o aparecimento de halos em torno do espécime.



Fungo da espécie *Morchella elata*, visto através de um microscópio de contraste de fase.

### **Microscópio de interferência**

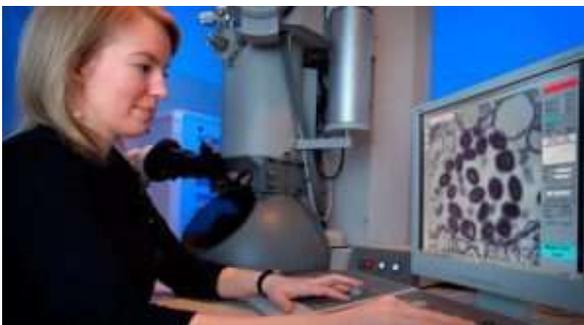
Duas modificações do microscópio de contraste de fase criaram o microscópio de interferência, que também possibilita quantificar a massa de tecido, e o microscópio diferencial de interferência (usando a óptica Nomarski), que é especialmente útil para avaliar as propriedades de superfície das células e de outros materiais biológicos. Esta técnica elimina os efeitos de halos encontrados na técnica de contraste de fase.

**Aplicação:** as amostras não precisam ser fixadas e coradas, por isso permite a observação de estruturas transparentes e materiais sem coloração, tecidos e células vivas podem ser estudados. Por sua melhor resolução, a visualização da imagem tem aparência 3D.



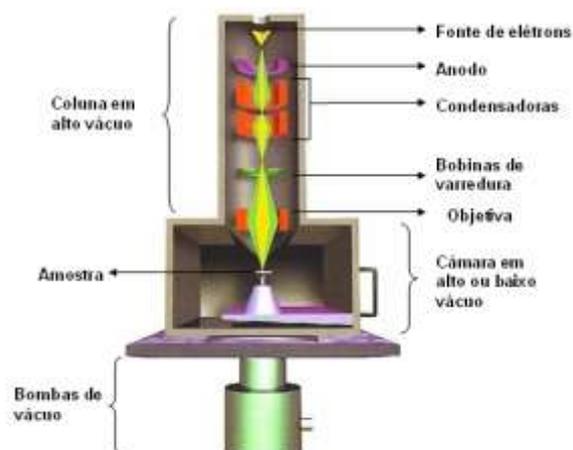
Exemplo de microscopia de contraste interferencial

## Microscopia Eletrônica



**Microscópio eletrônico:** amplia a imagem por meio de feixes de elétrons, estes dividem-se em duas categorias: Microscópio de Varredura e de Transmissão. Há ainda os microscópios de varredura de ponta que trabalham com uma larga variedades de efeitos físicos (mecânicos, ópticos, magnéticos, elétricos).

Um tipo especial de microscópio eletrônico de varredura é por tunelamento, capaz de oferecer aumentos de até cem milhões de vezes, possibilitando até mesmo a observação



da superfície de algumas macromoléculas, como é o caso do DNA.

#### Importância do microscópio

Com o aparelho foi possível estudar seres unicelulares e pluricelulares invisíveis a olho nú, incluindo é claro, as bactérias e protozoários responsáveis pela maioria das doenças hoje conhecidas.

A citologia é dependente de equipamentos que permitam a visualização completa das células humanas, pois a maioria delas são tão pequenas que não podem ser observadas sem o auxílio de instrumentos óticos de ampliação.



#### Tecido da mucosa intestinal.

O olho humano tem um limite de resolução de 0,2 mm. Abaixo desse valor, não é possível enxergar os objetos sem o auxílio de instrumentos, como lupas e, principalmente, o microscópio.

O crédito da invenção do microscópio é discutível, mas sabe-se que em 1590 os irmãos neerlandeses Franz, Johan e Zacarias Janssen compuseram um artefato rudimentar munido de um sistema de lentes, que permitia a ampliação e a observação de pequenas estruturas e objetos com razoável nitidez.

O aparelho foi denominado de microscópio e constituiu a principal janela da ciência para o mundo. da capacidade de resolução do olho humano.



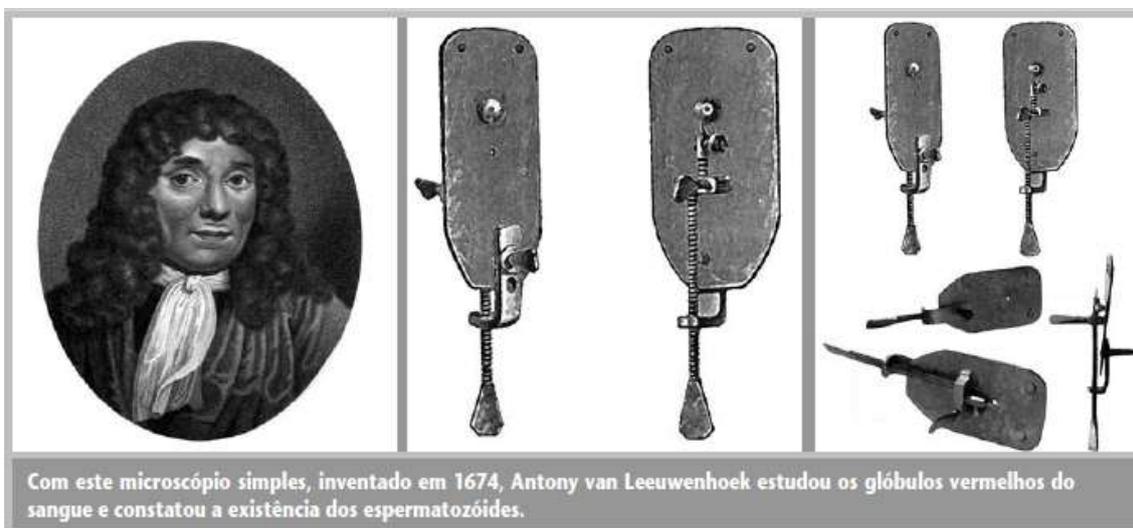
#### Pólen observado no microscópio eletrônico

Em 1665, o inglês Robert Hooke usou um microscópio para observar uma grande variedade de pequenos objetos, além de animais e plantas que ele mesmo representava em fiéis ilustrações.

Hooke percebeu além que a casca do carvalho era formada por uma grande quantidade de alvéolos vazios, semelhantes à estrutura dos favos de uma colmeia. Naquela época, Hooke não tinha noção de que estava observando apenas contornos de células vegetais mortas.

Publicou as suas descrições e ilustrações em uma obra denominada *Micrographia*, em que usa a designação “little boxes or cells” (pequenas caixas ou celas) para denominar os alvéolos observados, dando origem assim ao termo célula. O termo acabou tornando-se definitivo.

## Antony van Leeuwenhoek - inventor do microscópio



Relacionado entre as grandes invenções da Medicina, o microscópio, criado no início do século XVII, possibilitou o avanço do estudo da Biologia e uma nova percepção da ciência médica.

A invenção do microscópio, atribuída a Galileu, foi na verdade fruto do aperfeiçoamento realizado pelo naturalista holandês Antony van Leeuwenhoek, que o utilizou na observação de seres vivos. Dotado de apenas uma lente de vidro, o microscópio primitivo inventado pelo pesquisador permitia aumento de percepção visual de até 300 vezes e com razoável nitidez. E tudo aquilo que se encontrava invisível aos olhos tornou-se visível o suficiente para que fosse pesquisado. Este primitivo microscópio foi construído em 1674 e com ele conseguiu-se observar bactérias de 1 a 2 micra (medida equivalente a um milésimo de milímetro).

Com este simples instrumento, o naturalista estudou os glóbulos vermelhos do sangue, constatou a existência dos espermatozoides e desvendou também o mundo dos microrganismos.

Anos mais tarde o microscópio primitivo de Leeuwenhoek foi aprimorado por Robert Hooke, ganhando mais uma lente e a possibilidade de ampliação de imagem ainda maior. As primeiras observações de Hooke e os estudos de Antony van Leeuwenhoek levaram à descoberta das células. Porém somente em 1839, com o botânico Matthias Jacob Schleiden (1804 1841) e o zoólogo e fisiologista Theodor Schwann (1810 1882), ambos da Alemanha, a célula foi reconhecida como unidade fundamental da vida.

## Partes do microscópio

