

MANUAL DE PROCEDIMENTOS DO LABORATÓRIO MICROBIOLOGIA

Abril/2024

A599m

ANJOS, Danielle Oliveira dos

Manual de Procedimentos do Laboratório de Microbiologia / Danielle Oliveira dos Anjos --Itabuna - Bahia: Afya Itabuna, 2024
19p.

Manual de Procedimentos elaborado pela Coordenação dos Laboratórios Prof.^a Dr.^a Danielle Oliveira dos Anjos, pela Afya Faculdade de Ciências Médicas de Itabuna, Bahia – Afya Itabuna.

1. Manual.2. Procedimentos. 3.Microbiologia.

I. Anjos, Danielle Oliveira dos.

II. Afya Faculdade de Ciências Médicas de Itabuna. III. Título.

CDU:006.3/8

Catálogo Biblioteca Dr. ^a Maria Odília Teixeira

Aline Andrade Ferraz – Bibliotecária CRB 5/001881/O

Data da revisão: 16/04/2024

Data de validade: 16/04/2026

Data para próxima atualização desse material: 16/04/2026

1. INTRODUÇÃO

O laboratório de microbiologia da Afya Faculdade de Ciências Médicas é importante para auxiliar nas atividades práticas dos eixos dos Sistemas Orgânicos Integrados (SOI) e do eixo de Habilidades Médicas (HAM). Nesse laboratório são aplicadas metodologias ativas importantes para auxiliar no processo de ensino e aprendizagem prática. Os discentes são estimulados para identificar e entender a organização histofisiológicas dos tecidos estudados nos eixos SOI e HAM, através de observação de lâminas histológicas, fotomicrografias e plataformas digitais.

Esse manual fornece informações importantes sobre os procedimentos práticos sobre a preparação, coloração e análise células e tecidos em microscópios ópticos e interpretação dos resultados.

2. OBJETIVOS

- Aplicar os conhecimentos dos eixos de Sistemas Orgânicos Integrados SOI e de Habilidades Médicas (HAM), enriquecendo o aprendizado de forma multidisciplinar e transdisciplinar;
- Conhecer e manusear o microscópio óptico;
- Realizar coleta e coloração de células eucariontes para análise em microscopia óptica;
- Analisar amostras celulares e teciduais de conteúdos teóricos abordados nos eixos de SOI e HAM através da análise de fotomicrografias, plataformas digitais e microscópicas;
- Desenvolver atividades inerentes à investigação científica;
- Utilizar o espaço e ambiente do laboratório no desenvolvimento de atividades de caráter extencionista.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

PROTOCOLO CONHECENDO E MANUSENADO O MICROSCÓPIO E NOÇÕES DE PREPARAÇÃO DE LÂMINAS

1. INTRODUÇÃO

A palavra microscópio é de origem grega e significa *micros*, pequeno e *scopein*, observar, olhar com atenção. O microscópio óptico é um instrumento que tem por objetivo produzir imagens aumentadas de objetos tão pequenos que, ao exame da vista desarmada, não poderiam ser vistos. O microscópio compõe-se de um sistema óptico, as lentes, e de um sistema mecânico para sustentação das mesmas.

2. OBJETIVOS:

- Identificar os componentes do microscópio;
- Correlacionar cada componente do microscópio a sua função;
- Manusear corretamente o microscópio ótico;
- Relacionar a imagem formada e os aumentos obtidos com o funcionamento do sistema ótico
- Realizar a montagem básica de lâmina.

3. MATERIAIS

- a) Microscópios ópticos
- b) Letras de jornal
- c) Lâminas e lamínulas
- d) Lâminas citológicas e histológicas permanentes
- e) Lenço de papel
- f) Solução limpadoras de lentes
- g) Óculos de Proteção
- h) água destilada
- i) álcool 70%

j) gaze e papel toalha

k) água destilada

3.1. PROCEDIMENTO:

- Identifique os componentes do microscópio ótico a partir da descrição a seguir:
- **Base ou Pé:** suporte do microscópio que dá estabilidade ao mesmo. Peça que sustenta todas as outras.
- **Estativo, Corpo ou Braço:** peça que liga a base a parte superior do microscópio.
- **Platina ou Mesa:** dispositivo de forma retangular ou arredondada, disposto paralelamente à direção da base e que se destina a recepção de uma lâmina contendo o material para estudo. No centro da platina existe uma abertura destinada à passagem de luz.

Fixada à platina, encontra-se uma peça denominada “**Charriot**” cuja função é movimentar a lâmina no plano horizontal, sobre a mesma. Dois parafusos dispostos lateralmente à platina, um sobre o outro, promovem a movimentação do “**charriot**”. O parafuso mais externo (de menor diâmetro) permite o deslizamento da lâmina da esquerda para a direita e vice-versa. O parafuso de diâmetro maior é responsável pelo movimento da lâmina para frente e para trás. Acoplado ao “**charriot**” há uma presilha que permite o encaixe e fixação da lâmina.

- **Fonte de luz:** apoiada sobre a base, há uma fonte própria de luz.
- **Condensador:** consta de um conjunto de lentes situado abaixo da platina, que concentra o feixe luminoso, fornecendo a luz necessária à iluminação uniforme do objeto em estudo. O parafuso do condensador localizado lateralmente no braço do microscópio, permite a movimentação das lentes condensadoras que devem ser mantidas na posição mais elevada para a obtenção de uma iluminação mais uniforme.
- **Diafragma ou Íris:** Dispositivo colocado abaixo do condensador, regulável mediante uma alavanca, que controla a intensidade do feixe luminoso que atinge o orifício da platina. A regulação adequada do diafragma promove uma imagem com melhor contraste. Deve-se usar o diafragma pouco aberto com objetivas de menor aumento e mais aberto com objetivas de maior aumento.

- **Canhão:** peça superior do microscópio, dotada de movimento de rotação, ligada a um tubo que servem de suporte para as lentes oculares.
- **Oculares:** lentes superiores do microscópio destinadas a ampliar a imagem formada nas objetivas. O aumento que as oculares proporcionam encontra-se gravado em sua parte superior.
- **Revólver:** peça circular, localizada abaixo do canhão, onde se inserem várias lentes objetivas. O revólver é dotado de movimento de rotação que permite a mudança das objetivas.
- **Objetivas:** lentes acopladas ao revólver destinadas a formar e ampliar a imagem do objeto. Geralmente em número de quatro lentes, as objetivas trazem inscrições que especificam suas características. O primeiro número superior e em caracteres maiores indica o aumento que a objetiva proporciona; o segundo número superior constitui detalhe de óptica e se refere a abertura numérica da lente; o terceiro número abaixo do primeiro indica o comprimento do tubo mecânico (distância da rosca da objetiva até a **ocular**) e o **quarto número se refere a espessura da lamínula para a qual se formará a imagem nítida.**
- **Parafuso Macrométrico:** parafuso de maior diâmetro localizado na parte lateral do braço que permite grandes avanços e recuos da platina em relação à objetiva com a finalidade de promover a focalização do objeto.
- **Parafuso micrométrico:** parafuso de menor diâmetro associado ao macrométrico que permite pequenos avanços e recuos da platina em relação à objetiva, visando ajustar a focalização para propiciar uma imagem mais nítida.

3.2 PROCEDIMENTO: PREPARO DE LÂMINAS

1. Coloque sobre uma lâmina a letra de jornal e sobre esta uma gota de água destilada.
2. Cubra com uma lamínula, encostando um de seus bordos na gota de água, formando um ângulo de cerca de 45 ° e desça a mesma suavemente, minimizando, deste modo a formação de bolhas de ar.
3. Coloque a lâmina sobre a platina e observe a posição da letra de jornal a vista desarmada (olho nu).

4. ETAPA PARA FOCALIZAÇÃO DE AMOSTRAS MICROSCÓPICAS

- a) Gire o revólver, encaixando a objetiva de menor aumento. Faça isso, olhando lateralmente, para evitar que alguma objetiva toque a platina. Verifique se a objetiva está realmente encaixada, pelo ruído característico do encaixe.
- b) Pegue a lâmina, segurando-a pelas bordas. Verifique se a lamínula está voltada para cima.
- c) Abra a presilha e coloque a lâmina sobre a platina, encaixando-a ao “charriot”. Solte a presilha e verifique se a lâmina está bem encaixada.
- d) Acenda a luz do microscópio e centralize o material sobre a lâmina no orifício da platina, utilizando os parafusos do controle do “charriot”.
- e) Verifique se o diafragma está aberto, olhando lateralmente se há passagem de luz através do orifício da platina. Caso seja necessário regule a abertura do diafragma.
- f) Olhando lateralmente, levante a platina até o seu ponto máximo movimentando o parafuso macrométrico.
- g) Agora, olhando através da ocular através das oculares e utilizando o parafuso macrométrico, abaixe lentamente a platina, até que o material a ser observado seja focalizado. Assim que isso ocorrer, ajuste a focalização com o parafuso micrométrico.
- h) Explore o material a ser observado, percorrendo o campo de observação (círculo luminoso) através do movimento do parafuso do controle do “charriot”. Sempre que necessário ajuste o foco com o parafuso micrométrico.
- i) Antes de mudar para uma objetiva de aumento imediatamente superior, centralize o material que está sendo analisado no campo de observação e ajuste a focalização, utilizando apenas o parafuso micrométrico.

- j) Se for utilizar a objetiva de imersão (100X), abra espaço com o revólver de objetivas e coloque uma gota de óleo de imersão sobre a lamínula, depois volte a encaixar a objetiva.
- k) Terminando a observação, desligue a luz, **gire o revólver para encaixar a objetiva de menor aumento**, abaixe a platina com o macrométrico e retire a lâmina.
- l) Limpe a objetiva de imersão com um lenço de papel ou gaze umedecida em solução de álcool-éter (solução limpadoras de lentes).

PROTOCOLO: COLETA E COLORAÇÃO DE CÉLULAS DA MUCOSA BUCAL

1. INTRODUÇÃO

As células da mucosa bucal são células epiteliais que revestem o interior da boca, desempenhando funções importantes como proteção, sensibilidade tátil e facilitação da fala e da mastigação. Sua morfologia pode variar de acordo com fatores como idade e hábitos individuais. São facilmente coletadas por meio de raspagem bucal e amplamente utilizadas em estudos científicos, incluindo genética, medicina forense e pesquisa sobre câncer. Alterações nas células bucais podem indicar condições patológicas, como infecções virais e câncer oral, destacando sua importância no diagnóstico precoce e monitoramento de doenças.

2. OBJETIVOS

Descrever o processo de coloração de células da mucosa bucal

Observar as células a fresco da mucosa oral

3. MATERIAIS:

- a) Microscópio óptico
- b) Lâminas de vidro
- c) Luvas para procedimento
- d) Pipeta de Pasteur ou conta gotas
- e) Papel absorvente
- f) Béquer para descarte
- g) Swab ou abaixador de língua
- h) Corante azul de metileno
- i) Álcool 70%
- j) Pisseta com água

k) Amostra da mucosa bucal

4. DESCRIÇÃO DO PROCEDIMENTO:

Colocar as luvas para iniciar o procedimento.

1. Com um swab/espátula de madeira, raspar levemente a parte interna da bochecha.
2. Fazer um esfregaço espalhando no centro de uma lâmina de vidro o material raspado da bochecha.
3. Fixar o material mergulhando a lâmina com o esfregaço em álcool 70%. Aguardar 1 minuto.
4. Retirar a lâmina do álcool e escorrer o excesso de líquido em um pedaço de papel absorvente.
5. Colocar a lâmina sobre o suporte na pia e pingar o corante azul de metileno, até cobrir todo o esfregaço. Aguardar 2 minutos.
6. Utilizando uma pisseta, remover o excesso de azul de metileno, projetando sobre a lâmina um jato de água.
7. Secar a parte de baixo da lâmina com papel absorvente.
8. Observar ao microscópio o material (manusear de acordo com o procedimento da aula anterior) em diferentes aumentos.

5. ETAPA DE VISUALIZAÇÃO NO MICROSCÓPIO

- **Pequeno aumento** (objetivas de 4x): as células com esse aumento são muito pequenas, mas podem ser percebidas.
- **Médio aumento** (objetiva de 10x): nesse aumento já é possível perceber com mais nitidez a presença de estruturas celulares.
- **Grande aumento** (objetiva de 40x): com este aumento já se consegue observar algumas estruturas celulares mais coradas e outras menos coradas. Não é possível visualizar de maneira isolada a membrana plasmática.

Data da revisão: 16/04/2024

Data de validade: 16/04/2026

Data para próxima atualização desse material: 16/04/2026

PROTOCOLO: ANÁLISE DE FOTOMICROGRAFIAS E/OU PLATAFORMAS DIGITAIS

1. INTRODUÇÃO

As fotomicrografias citológicas e histológicas são imagens ampliadas de tecidos biológicos observados através de microscópios ópticos. Elas revelam a estrutura microscópica de células e tecidos, sendo essenciais para estudos nas áreas de saúde, como a medicina. As imagens são obtidas através da preparação e coloração de amostras de tecido e ajudam na compreensão da anatomia e fisiologia dos organismos, assim como na identificação de patologias. As fotomicrografias são recursos importantes para auxiliar nas aulas práticas de microscopia para que os alunos possam correlacionar e discutir estruturas celulares e teciduais de conteúdos abordados nos eixos SOI e HAM. Nesse manual vamos usar a laringe como modelo, mas poderá ser usado outras estruturas morfológicas de outros sistemas para correlação.

2. OBJETIVO

Assistir o vídeo (o que é laringe) e identificar as principais estruturas histológicas encontradas na laringe.

3. PROCEDIMENTOS

3.1 PROCEDIMENTOS: PARA A ATIVIDADE PRÁTICA (PROFESSOR):

O professor deverá passar o vídeo (o que é laringe?) para toda a turma e após o vídeo o professor deverá dividir a turma em pequenos grupos para realização da atividade prática: Cada grupo irá discutir e responder as questões referente ao que foi visto no vídeo e outro grupo irá identificar e diferenciar as principais estruturas histológicas enumeradas na fotomicrografia da laringe. Para essa etapa o professor deverá imprimir a figura 183 do livro (Novo atlas de histologia normal de di Fiori), a legenda da figura deve ser retirada para o aluno fazer a identificação dos tecidos. O professor dá um tempo de 20 a 30 minutos para os grupos desenvolverem as atividades que foram propostas. Além disso, o professor deve entregar uma folha para que os alunos coloquem os nomes dos grupos, a data e o assunto que está sendo trabalhado. Em seguida o professor deve projetar a imagem para discussão com os grupos e fechamento da aula.

Link para baixar o vídeo no youtube:

https://int.search.tb.ask.com/search/video.jhtml?enc=0&n=7858c29c&p2=%5ECRB%5Exdm954%5ES32466%5Ebr&pg=video&pn=1&ptb=7BAEE18F-58E0-4EEC-8749-4D965525FE5F&qS=&searchfor=o+que+%C3%A9+a+latinge&si=3_2790855&ss=sub&st=sb&tpr=sbt

Referência:

PIEZZI, R.P; FORNÉS, M.W. Novo atlas de histologia normal de di Fiore. Editora Guanabara e Koogan. Rio de janeiro, RJ 2006.

3.2 PROCEDIMENTOS PARA A ATIVIDADE PRÁTICA (ALUNO):

Atividade do filme: Cada grupo irá discutir e responder as questões.

1. O que é laringe?
2. Quais as cartilagens encontradas na laringe?
3. Qual a função da laringe?
4. De acordo com o vídeo como é observado as diferenças das pregas vocais?
5. Discuta sobre as camadas que formam a laringe.
6. Faça um breve comentário sobre a formação do som de acordo com o que foi abordado no filme.

3.2.1 PROCEDIMENTOS PARA A ATIVIDADE PRÁTICA (ALUNO):

Os alunos irão identificar as principais diferenças histológicas na fotomicrografia da laringe e responder em uma folha que tipo de tecido encontra-se em cada camada da laringe. Deve identificar todas as estruturas enumeradas para entregar ao professor com o nome do grupo.

As estruturas que os alunos devem identificar são:

Parede da laringe: Mucosa, musculatura e peça de cartilagem.

Prega vestibular da laringe (falsa corda vocal) e o tipo de epitélio

Prega vocal da laringe (corda vocal verdadeira) e o tipo de epitélio

Presença de Nódulos linfóides

Lâmina própria

Ventrículo laríngeo

Ácinos serosos e mucosos

4. CONCLUSÃO

O professor deverá realizar o feedback para discussão verificação do aprendizado.

5. REFERÊNCIAS

Link para baixar o vídeo no youtube:

https://int.search.tb.ask.com/search/video.jhtml?enc=0&n=7858c29c&p2=%5EACRB%5Exdm954%5ES32466%5Ebr&pg=video&pn=1&ptb=7BAEE18F-58E0-4EEC-8749-4D965525FE5F&gs=&searchfor=o+que+%C3%A9+a+latinge&si=3_2790855&ss=sub&st=sb&tpr=sbt

PIEZZI, R.P; FORNÉS, M.W. Novo atlas de histologia normal de di Fiore. Editora Guanabara e Koogan. Rio de janeiro, RJ 2006.

PROTOCOLO: EMBRIOLOGIA DO SISTEMA NERVOSO

1. INTRODUÇÃO

A neurulação é a formação do tubo neural durante o desenvolvimento embrionário, dando origem ao sistema nervoso central. Neurogênese é o processo de geração de neurônios a partir de células-tronco neurais ou progenitoras neurais, ocorrendo tanto no desenvolvimento embrionário quanto na vida adulta. Ambos são cruciais para a formação e funcionamento adequados do sistema nervoso.

2. OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM:

- Conhecer o processo da neurulação;
- Identificar o folheto embrionário formador da placa neural;
- Listar a importância da crista neural;
- Descrever o processo de formação das vesículas encefálicas a partir do tubo neural.

2. MATERIAIS:

Figuras representando a formação da placa neural e das vesículas encefálicas

Vídeo abordando a neurulação e formação das vesículas encefálicas

Roteiro da prática

3. EQUIPAMENTOS:

Computador

Datashow

4. PROCEDIMENTOS PARA A ATIVIDADE PRÁTICA (PROFESSOR):

Primeiro passo:

As aulas práticas serão realizadas em ambientes de práticas tendo no máximo (4-5 alunos por ambiente). O professor deverá dividir a turma e distribuir imagens com os tópicos a serem desenvolvidos por cada aluno.

Promover a leitura, apresentação e discussão dos tópicos entre os grupos. (Tempo previsto 40 min.)

Para avaliar a formação da placa e tubo neural, deverão ser disponibilizadas para os alunos, figuras em sequência não cronológica, para que sejam organizadas de forma que representem o passo a passo da neurulação. (Tempo estimado 10 min.)

Segundo passo:

Apresentação da sequência montada pelo grupo;

Neste momento os alunos deverão listar e discutir sobre as principais ocorrências de cada evento. (Tempo estimado 15 min.)

Terceiro passo:

Para avaliar o processo de formação das vesículas encefálicas, figuras deverão ser disponibilizadas em cada grupo para que sejam organizadas na sequência correta de formação das vesículas. (Tempo estimado 10 min.)

Quarto passo:

Apresentação da sequência montada pelo grupo;

Neste momento os alunos deverão listar e discutir sobre as principais ocorrências de cada evento. (Tempo estimado 15 min.)

Quinto passo:

Resolução das questões. (Tempo estimado 20 min.)

Sexto passo:

Passar o vídeo sobre os eventos trabalhados em aula. (Tempo estimado 10 min.)

Sugestão de vídeo:

<https://www.youtube.com/watch?v=nR8bKY6L-Po>

https://www.youtube.com/watch?v=pri0_KN8Jnw

Prof. Dr. Luciano de Oliveira Souza Tourinho
Diretor Geral
OAB-BA 30334

Prof.^a M.Sc. Mércia Margotto
Coordenadora do curso de medicina
CREMEB : 5107

Prof.^a Dra. Danielle Oliveira dos Anjos
Coordenação de Laboratórios
CRBio 122.124/08-D

Prof.^a Dra. Tatiana Setenta Bastos
CRBM 18969
Docente da Afya

Profa. Dra. Marília Santos dos Anjos
Coren/BA 000.508.374
Docente - Afya

Profa. Tatiana da Silva Pires
Coren/BA 115305
Docente - Afya

APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O presente Protocolo, devidamente revisado pelo responsável técnico, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no dia ____/____/____.

Assinatura CEP: _____