

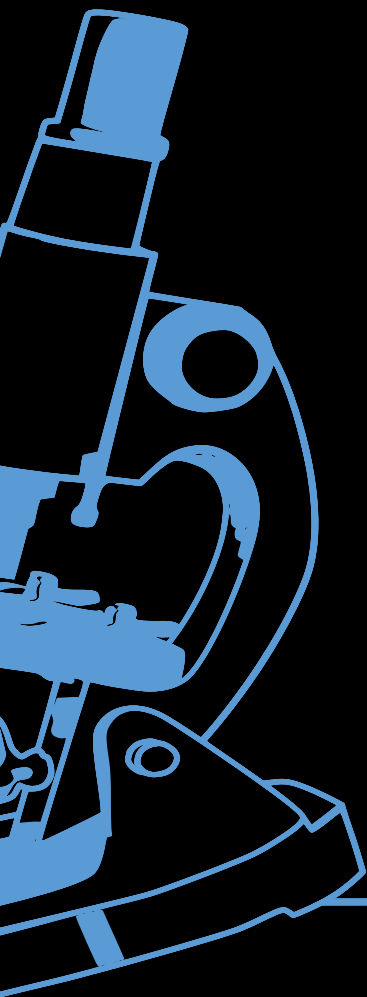
UNIFAMINAS

APOSTILA DE AULAS PRÁTICAS

BIOLOGIA GERAL

VOLUME I

*Introdução às Práticas
em Laboratório*



EDITORES

Érica Mangaravite

Fernanda Mara Fernandes

Fernando Augusto da Silveira

Maurício Alexander de Moura Ferreira

✕ UNIFAMINAS
APOSTILA DE AULAS PRÁTICAS

BIOLOGIA GERAL

VOLUME I

Introdução às Práticas em Laboratório

EDITORES

Érica Mangaravite

Fernanda Mara Fernandes

Fernando Augusto da Silveira

Maurício Alexander de Moura Ferreira

1ª Edição

Muriaé - MG, 2020



Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Cristina de Souza Maia- CRB6 2294

M266b

Mangaravite, Érica

Biologia geral: introdução às práticas em laboratório. / Érica Mangaravite (edit.); Fernanda Mara Fernandes (edit.); Fernando Augusto da Silveira (edit.); Maurício Alexander de Moura Ferreira (edit.). – Muriaé: UNIFAMINAS, 2020.

24 p., v.1

ISBN: 978-65-88341-00-1

1. Biologia geral. 2. Apostila de aulas práticas. 3. Práticas em laboratórios. I. Mangaravite, Érica (edit.). II. Fernandes, Fernanda Mara (edit.). III. Silveira, Fernando Augusto da (edit.). IV. Ferreira, Maurício Alexander de Moura (edit.). V. Título.

CDD 573

SUMÁRIO

Prefácio.....	4
Sobre os autores.....	6
Prática 1 - Biossegurança laboratorial.....	7
Prática 2 - Microscopia para visualização de células.....	12
Prática 3 - Preparo de lâminas permanentes e interpretação de cortes parafinados.....	17
Prática 4 - Punção venosa.....	21

A iniciativa em produzir essas apostilas surgiu quando entrei no Centro Universitário UNIFAMINAS (Muriaé-MG) e comecei a lecionar a disciplina de Biologia Geral, em março de 2019. Percebi que uma apostila poderia ser muito útil aos demais professores dessa mesma disciplina e, principalmente, que poderia auxiliar no processo de aprendizagem dos estudantes. Ao conversar com algumas professoras (Fernanda Mara Fernandes, Christiane Mariotini-Moura, Isabela Resende Pereira, Luciana de Andrade Agostinho e Livia Loiola) recebi um retorno positivo para colaboração. Tivemos a ideia de convidar estudantes (e outros recém-formados) do curso de Biomedicina (curso em que estou alocada) para também participarem e, felizmente, muitos aceitaram. Outra parceria extremamente importante foi a da professora Erika Takagi Nunes (Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Alegre-ES). Ela ministrou a disciplina de Histologia e Embriologia, que tive o prazer de presenciar, quando era caloura do curso de Ciências Biológicas. O meu encantamento pela disciplina foi tamanho que me tornara a monitora pelos dois semestres seguintes. Fiquei extremamente feliz nessa parceria, por ela ter feito parte da minha história acadêmica. E a professora Erika convidou seu atual monitor da disciplina, que também nos enriqueceu bastante. Após receber todas as práticas, previamente testadas, duas pessoas também foram extremamente importantes no processo de formatação, diagramação e ilustração: Fernando Augusto da Silveira e Maurício Alexander de Moura Ferreira que são, pesquisador colaborador e mestrando, respectivamente, do programa de pós-graduação de Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV, Viçosa,-MG).

No início, a apostila abrangeia tópicos de Citologia, Histologia e Embriologia. Entretanto, ao longo do ano, o material intitulado **Apostila de Aulas Práticas: Biologia Geral** foi ganhando mais tópicos e colaborações, até ser subdividido, didaticamente, em três volumes. O Volume I **Introdução às Práticas de Laboratório** consiste de quatro práticas introdutórias para que o estudante possa iniciar em um ambiente de laboratório. O Volume II **Citologia, Genética e Biologia Molecular** é o maior e possui 14 práticas que abordam na primeira parte temas de Citologia e, na segunda parte, temas de Genética e Biologia Molecular. Por fim, o Volume III **Histologia e Embriologia** possui dez práticas e que também estão subdivididas em duas partes.

Dessa forma, apresentamos a vocês, estudantes da área de ciências biológicas e da saúde, um material didático, com resumos atuais e questões para fixação de cada tópico abordado. Posso garantir que todos os autores e editores (profissionais e estudantes) se empenharam bastante para oferecer um material que possa facilitar no processo de ensino e aprendizagem! Espero que lhes seja útil, que aproveitem bastante, mas que não se esqueçam de que vocês são os principais atores nesse processo!

Professora Érica Mangaravite

SOBRE OS AUTORES

Bianca de Matos Moreira (autora)

Biomédica (UNIFAMINAS), Muriaé, Minas Gerais, biabiubis@outlook.com

Caio Agostini Calheiros Grosso (autor)

Biomédico (UNIFAMINAS), auxiliar de laboratório do setor de Análise Clínicas do Hospital do Câncer de Muriaé (Fundação Cristiano Varella), Muriaé, Minas Gerais, caioagostiny@gmail.com

Érica Mangaravite (autora e editora)

Bióloga (UFES), mestre e doutora em Genética e Melhoramento (UFV), pós-doutora em Microbiologia Agrícola (UFV), professora titular do Centro Universitário UNIFAMINAS, Muriaé, Minas Gerais, erica.mangaravite@gmail.com

Fernanda Mara Fernandes (autora e editora)

Farmacêutica (USS), farmacêutica bioquímica (UFJF), licenciada em Ciências Biológicas (UNIFRAN), especialista em Controle Biológico de Produtos Farmacêuticos e Correlatos (UFJF), mestre e doutora em Ciências Agrárias (UFV), professora titular do Centro Universitário UNIFAMINAS, Muriaé, Minas Gerais, fernandauss@hotmail.com

Fernando Augusto da Silveira (editor e revisor)

Biólogo (UFOP), mestre e doutor em Microbiologia Agrícola (UFV), pesquisador colaborador do Programa de pós-graduação em Microbiologia Agrícola (UFV), Viçosa, Minas Gerais, silveira.daf@gmail.com

Isabela Resende Pereira (autora)

Biomédica habilitada em Análises Clínicas (UFF), mestrado e doutorado em Biologia Celular e Molecular (Fundação Oswaldo Cruz), pós-doutora pelo Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (UFRJ), professora titular do Centro Universitário UNIFAMINAS, Muriaé, Minas Gerais, professora adjunta da Universidade Federal Fluminense, resendeisabela@gmail.com

Lais Gonçalves Parvan (autora)

Biomédica (UNIFAMINAS), Muriaé, Minas Gerais, laisgoncalvesparvan@gmail.com

Maurício Alexander de Moura Ferreira (editor e revisor)

Biólogo (UFES), mestrando em Microbiologia Agrícola (UFV), Viçosa, Minas Gerais, mauricioferreira421@gmail.com

Tiago César Gouvêa Moreira (autor)

Biomédico (UNIFAMINAS), auxiliar de laboratório do setor de Biologia Molecular do Hospital do Câncer de Muriaé (Fundação Cristiano Varella), Muriaé, Minas Gerais, tiagoocesar@gmail.com

PRÁTICA 1 - BIOSSEGURANÇA LABORATORIAL

Autores: Caio Agostini Calheiros Grosso, Tiago César Gouvêa Moreira, Érica Mangaravite

INTRODUÇÃO

No ambiente laboratorial encontram-se diversas possibilidades de conhecimentos e descobertas, entretanto, o manuseio de equipamentos e materiais se apresentam como fontes de riscos que podem ocasionar acidentes por erros humanos ou falha técnica. Assim, a biossegurança constitui uma área de conhecimento de extrema importância, sendo suas recomendações e normas difundidas internacionalmente.

A biossegurança é definida como um conjunto de medidas e ações voltadas a prevenção, controle, minimização ou eliminação dos eventuais riscos presentes nas diversas áreas profissionais, que possam comprometer a saúde humana, a dos animais, a preservação do meio ambiente e a qualidade de serviço (BRASIL, 2004).

De acordo com a Portaria nº 3.214 de 08 de junho de 1978 do Ministério do Trabalho, Normas Regulamentadoras (NR) foram aprovadas a fim de garantir a Consolidação das Leis do Trabalho relacionadas a Segurança e Medicina do Trabalho (BRASIL, 2010).

A Norma Regulamentadora 9 (NR-9), atualizada pela Portaria Nº 25 de 29/12/1994, visa a integridade do trabalhador por meio da antecipação, avaliação, controle e reconhecimento dos possíveis riscos de acidentes físicos, químicos, biológicos e ergonômico que estejam presentes no ambiente de trabalho (BRASIL, 2010).

Como forma de classificar os laboratórios de acordo com o grau de biossegurança a Comissão de Biossegurança em Saúde (CBS) elaborou Diretrizes Gerais para o Trabalho em Contenção com Material Biológico, classificando de acordo com os riscos biológicos os tipos de agentes patogênicos (BRASIL, 2010). Ademais, as diretrizes do Ministério da Saúde determinaram quatro níveis de biossegurança (quadro 1.1).

Quadro 1.1: Relação entre os níveis de biossegurança e os tipos de agentes patogênicos.

Níveis de Biossegurança	Classe de agentes biológicos	Considerações
Nível 1 (NB-1)	Risco 1	Para microrganismos que possuem pouca possibilidade de provocar doenças humanas ou veterinárias, sendo recomendados equipamentos adequados e boas práticas laboratoriais
Nível 2 (NB-2)	Risco 2	Para patógenos de risco individual moderado e comunitário limitado, necessitando de barreiras físicas primárias (EPIs e cabines de segurança biológica) e projeção adequada do laboratório de acordo com a legislação vigente
Nível 3 (NB-3)	Risco 2 e Risco 3	Para microrganismos de risco individual elevado e comunitário limitado, sendo necessárias medidas de contenção física primária e secundária, laboratório projetado e construído para agentes de alto risco, com controle vigilância e manutenções rígidas, e o corpo técnico treinado
Nível 4 (NB-4)	Risco 4 e Risco 5	Para patógenos de elevado risco individual e comunitário, e com alta chance de contaminação do meio ambiente, sendo exigidas ao laboratório todas as considerações já mencionadas

OBJETIVO

Conhecer as boas práticas e as normas de biossegurança em laboratórios, com o intuito de mitigar os riscos.

BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS

Antes da realização das atividades laboratoriais:

- Conhecer os riscos biológicos, químicos, radioativos, tóxicos e ergonômicos existentes no laboratório e a classificação recebida de acordo com CBS;
- Nunca manipular microrganismos ou substâncias que não estão dentro do nível de biossegurança do laboratório;
- Conhecer o mapa de risco do laboratório;
- Saber a localização do lava olhos, chuveiro de descontaminação e extintores (Equipamentos de proteção coletiva, EPCs);
- Evitar trabalhar sozinho;
- Manter o laboratório limpo e arrumado, evitando assim contaminações e acidentes;
- Usar Equipamentos de proteção individual (EPIs) (jaleco, máscara, óculos, sapato fechado e luva);
- Saber ler o rótulo de substâncias;
- Cabelos compridos devem estar presos;
- Unhas de preferência curtas;
- Evitar uso de adornos;
- Não fumar, comer, beber ou armazenar alimentos no laboratório;
- Descontaminar as superfícies após os experimentos;
- Descontaminar as substâncias líquidas e sólidas antes de serem descartadas;
- Lavar as mãos sempre após o término dos procedimentos;

- O planejamento do experimento é imprescindível. Mas no caso do surgimento de qualquer dúvida sobre uma solução ou algum aparelho, durante a execução, SEMPRE esclarecer com um profissional capacitado antes de prosseguir com o experimento.

CASOS DE ACIDENTES

1. Avisar os colegas, sinalizar a área;
2. Lavar a pele com sabão e deixar cair água corrente em cima;
3. Cobrir o material contaminado;
4. Saturar com solução de hipoclorito 2% durante 30 minutos;
5. Descartar material em local adequado e lavar a área de trabalho com sabão;
6. Lavar as mãos e preencher relatório de acidente.

Observações: Em casos de acidentes que envolvam grande área da superfície corporal usar o chuveiro de descontaminação. Se substâncias caírem na região ocular utilizar lava olhos de emergência.

QUESTÕES

- 1) Explique a importância da utilização EPIs (Equipamento de proteção individual) e EPCs (Equipamento de proteção coletivo) em procedimentos e técnicas que possam causar riscos.

- 2) Classifique os laboratórios da instituição de acordo com os níveis de biossegurança e justifique a sua resposta de acordo com microrganismo manipulado no setor.

- 3) Esquematize um mapa de risco de um laboratório, evidenciando a existência de possíveis riscos de acidentes sejam físicos, biológicos, químicos e ergonômicos.

--

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biossegurança em saúde: prioridades e estratégias de ação**. Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

PRÁTICA 2 - MICROSCOPIA PARA VISUALIZAÇÃO DE CÉLULAS

Autores: Caio Agostini Calheiros Grosso, Tiago César Gouvêa Moreira, Érica Mangaravite, Fernanda Mara Fernandes

INTRODUÇÃO

O microscópio é um dos principais instrumentos utilizados por profissionais da área de saúde como biomédicos, biólogos, farmacêuticos entre outros, e tem como objetivo ampliar e observar estruturas visíveis diminutas ou invisíveis para os seres humanos (MOREIRA, 2013).

Um dos primeiros problemas ao estudar células foi o seu tamanho, visto que, a visão humana não observa estruturas com diâmetros inferiores a um décimo do milímetro (0,1 mm). Com isto, as primeiras células foram observadas e descritas no século XVII (ATTIAS, 2010). Deste modo, o microscópio óptico permitiu a observação de células após a fixação e coloração, tais como as células dos organismos eucariotos, bactérias e muitas estruturas dos seres vivos, além dos ovos de parasitas na fase larval e adulta.

Os microscópios ópticos são constituídos por componentes mecânicos responsáveis por toda sustentação (tabela 2.1) e componentes ópticos que permitem a ampliação de imagem (tabela 2.2).

Tabela 2.1: Componentes mecânicos do microscópio óptico e suas funcionalidades.

Componentes mecânicos	Função
Base	Suporta todos os componentes do microscópio
Braço	Serve de apoio para as lentes e a platina
Platina	Local para colocar a lâmina, contendo abertura central para passagem da luz e pinças para suporte e fixação da preparação
Revólver	Suporta as lentes objetivas e permite a troca das mesmas sobre um eixo
Canhão	Suporta a ocular superior
Parafuso macrométrico	Possibilita movimentos verticais de grande amplitude da platina para focagem da imagem
Parafuso micrométrico	Possibilita movimentos verticais lentos com amplitude pequena de grande para focagem da imagem

Tabela 2.2: Componentes ópticos do microscópio óptico e suas funcionalidades.

Componentes ópticos	Função
Condensador	Orienta e distribui a luz emitida igualmente pelo campo de visão, por meio de sistema de lentes
Diafragma	Regula a quantidade de luz propagada no campo de visão
Fonte luminosa	Ajuda na visualização de estruturas celulares pela emissão de luz artificial
Lente ocular	Amplia a imagem real fornecida pela objetiva
Lente objetiva	Projeta a imagem real, ampliada e invertida

As objetivas possuem escrituras na parte externa indicando o poder de ampliação e resolução (Figura 2.1). A ampliação corresponde ao número de vezes que a imagem é aumentada com relação ao objeto real, sendo que o poder de ampliação (ampliação total) está ligado ao poder de ampliação da objetiva e ocular presentes no microscópio. Ademais, o poder de resolução deve-se a capacidade que as lentes possuem para discriminar objetos próximos (MOREIRA, 2013).

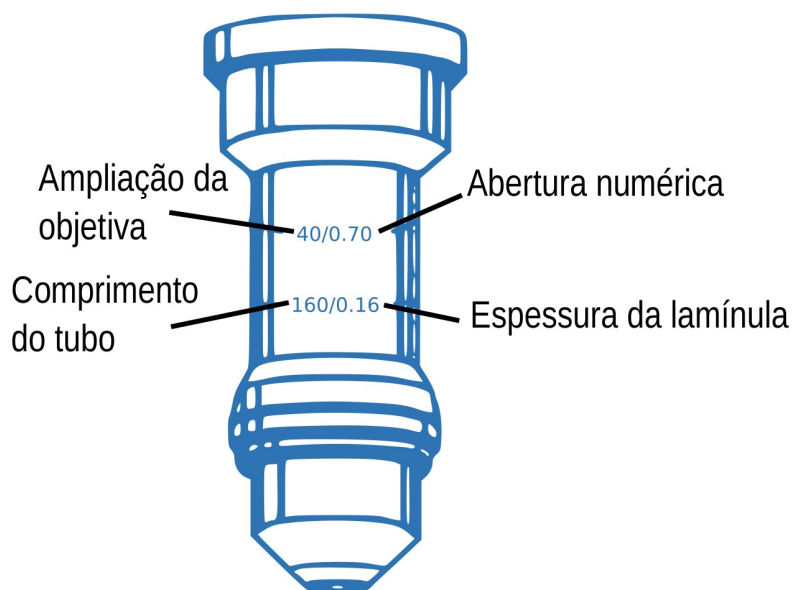


Figura 2.1. Lentes objetivas. Fonte: Adaptado LEAL (2000).

Algumas etapas são importantes para o bom manuseio do microscópio, pois, além de permitirem a melhor visualização da lâmina, contribuem para durabilidade do equipamento. Estas etapas constam na tabela 2.3. Aos desligar o aparelho, lembre-se de retirar a lâmina utilizada, limpar a objetiva de 100 (caso utilizada), deixar na menor objetiva, menor quantidade de luz, deixar a platina na posição mais baixa, desligar o microscópio no botão e na tomada, e colcar a capa, respectivamente.

Tabela 2.3: Etapas para utilização do microscópio.

1- Tirar a capa;	6- Na objetiva de 4, olhando na ocular, focalizar com o macrométrico;
2- Ligar na tomada (<i>confira a voltagem!</i>);	7- Passar para as objetivas seguintes (10 e 40, respectivamente) e focalizar com o micrométrico;
3- Ligar o botão e aumentar a luz;	8- Ao utilizar a objetiva de 100, adicione o óleo de imersão enquanto o revólver ainda está ajustado entre as objetivas de 40 e 100;
4- Adicionar e fixar a lâmina a ser visualizada ;	
5- Ajustar o <i>charriot</i> no campo a ser observado da lâmina (também pode ser utilizado após focalização em cada objetiva de interesse);	9- Após colocar na objetiva de 100, ajuste o micrométrico novamente. <i>OBS: após utilização do óleo de imersão, a objetiva deve ser limpa com auxílio de algodão.</i>

OBJETIVO

Manusear o microscópio de luz e visualizar células hematológicas.

EPIS

Luvas, jaleco, máscara e óculos.

MATERIAL

- Agulha para obtenção da amostra (perfuração do dedo);
- Lâminas;
- Sangue;
- Pipeta automática;
- Ponteira;
- Corante (panótico).

PROCEDIMENTOS

1. Após furar a ponta do dedo, adicionar em uma gota de sangue na extremidade da lâmina (cerca de 10 microlitros);
2. Com outra lâmina, colocar a gota em contato com a borda realizar a distensão do material com o dorso da lâmina no ângulo de 45° (esfregaço);
3. Esperar a distensão sanguínea secar;
4. Corar o material com corante Panótico Rápido;
5. Coloque as lâminas no microscópio óptico, passando da objetiva de menor aumento para a de maior como explicado na tabela 2.3.

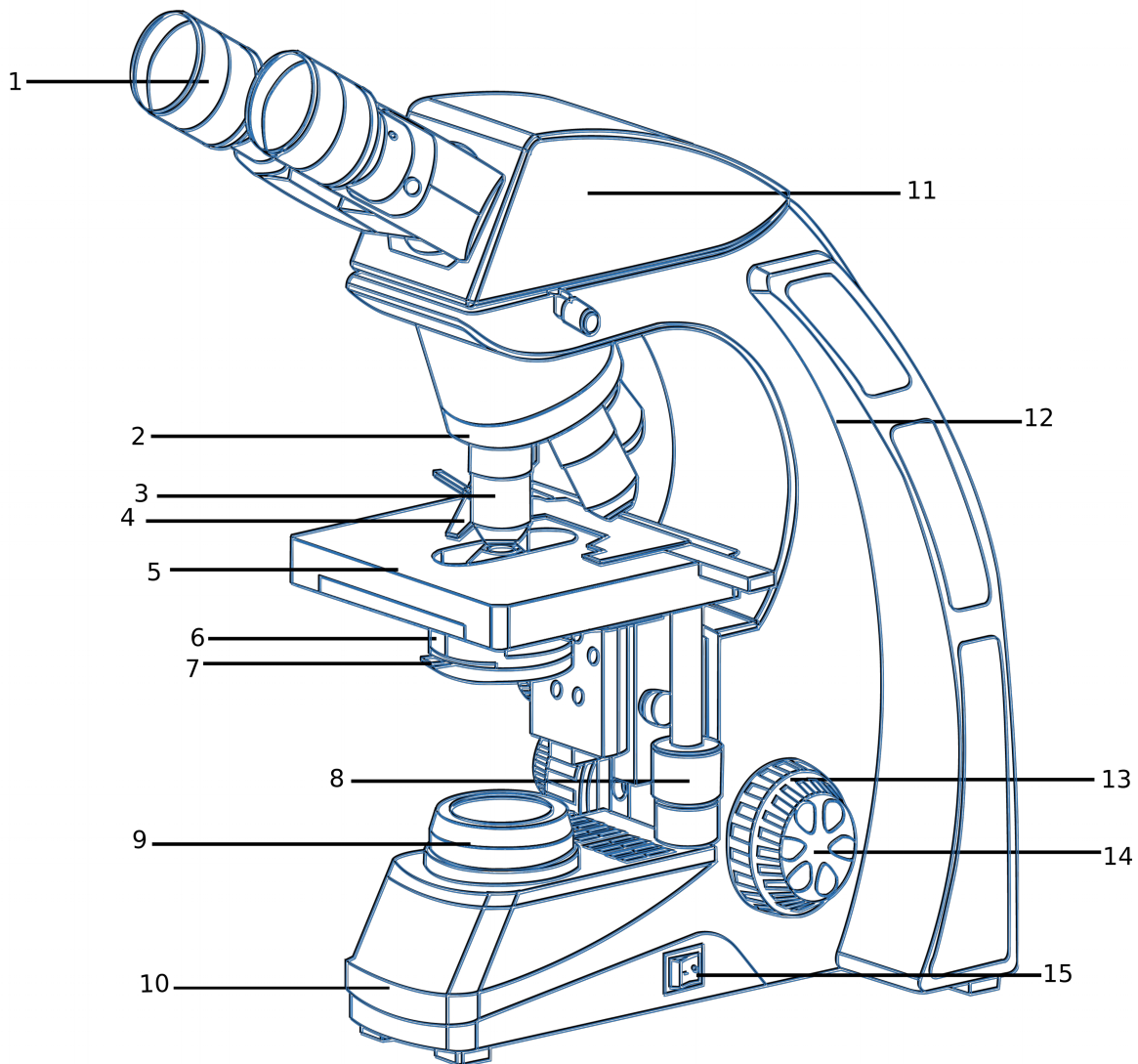
QUESTÕES

- 1) Há partes pontadas no esquema do microscópio (questão 3) não citadas nas tabelas 2.1 e 2.2. Identifique-as e descreva a função de cada uma.

- 2) Desenhe as hemácias e as células leucocitárias observadas no microscópio.

--

3) Nomeie as estruturas do microscópio óptico.



REFERÊNCIAS

ATTIAS, M. **Biologia Celular**. 4.ed. Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010.

LEAL, L. H. M. **Fundamentos de microscopia**. Rio de Janeiro: UERJ, 2000.

MARCOS, G. F; VAINI, J. O; CRISPIM, B. A; TEIXEIRA, T. Z. **Práticas de biologia celular**. 1 Ed. Dourados, MS: UFGD, 2017.

MOREIRA, C. Microscópio óptico. **Revista de Ciência Elementar**, v. 1, n.1, p.5, 2013.

PRÁTICA 3 - PREPARO DE LÂMINAS PERMANENTES E INTERPRETAÇÃO DE CORTES PARAFINADOS

Autores: Laís Gonçalves Parvan, Bianca de Matos Moreira, Isabela Resende Pereira

INTRODUÇÃO

A palavra histopatologia tem origem grega, sendo que “histo” significa tecido, “pathos” doença e “logia” estudo. A histopatologia é uma área de estudo da anatomia patológica em que, por meio da confecção de lâminas histológicas, é possível identificar alterações e anormalidades estruturais dos tecidos e células, auxiliando no diagnóstico de neoplasias e anormalidades.

Algumas etapas devem ser seguidas para a confecção das lâminas histológicas. A primeira etapa é a **coleta**, que consiste na retirada de uma amostra de tecido para a investigação por meio de biópsias. Em seguida, é feita a **fixação**. Ao se remover qualquer material (órgão ou tecido) de um organismo se inicia um processo de autólise (autodigestão). A fixação utiliza processos físicos ou químicos para imobilizar as substâncias constituintes das células e dos tecidos. Isso evita a autólise celular e impede a proliferação de microrganismos de forma a preservar a morfologia do tecido e fornecer maior resistência para as etapas seguintes. O agente fixador mais utilizado é o formol.

A terceira etapa é a **desidratação** e consiste na remoção da água dos tecidos. O método mais comum compreende uma série de soluções alcoólicas em concentrações diferentes, chegando até o álcool 100%. A quarta etapa é a **clarificação**, Essa etapa remove totalmente o álcool, preparando o espécime para a etapa seguinte. Para remover o álcool e preparar o tecido para a penetração da parafina, utiliza-se o xilol. Conforme o xilol penetra o tecido, em substituição ao álcool, o material se torna mais claro, transparente. A etapa seguinte é a **inclusão**, que é feita a impregnação do tecido em uma substância de consistência firme, a parafina é a mais utilizada. Assim o tecido é endurecido, o que facilita o corte em camadas finas. Depois de endurecido, o bloco de parafina deve ser cortado em seções extremamente finas, que permitam a visualização do tecido ao microscópio. Para isso, é utilizado o equipamento de precisão, o micrótomo, que alcança a espessura dos cortes de 5 a 15 µm (micrômetros).

Por fim, é feita a **coloração**, como as seções de parafina são incolores, os espécimes não estão ainda adequados para exame com microscópio de luz. São então corados para possibilitar a análise. A parafina deve ser dissolvida e removida. Em seguida os tecidos na lâmina são reidratados por meio de uma série de soluções

de álcool em concentrações decrescentes. Hematoxilina e eosina é a principal coloração histológica utilizada na rotina laboratorial. Por sua natureza básica, a hematoxilina vai corar os ácidos nucleicos dos núcleos em azul/roxo. Em seguida, os cortes são lavados e corados pela eosina, um corante de natureza ácida, que irá corar os componentes básicos predominantes no citoplasma das células em vermelho/laranja. Após a coloração é feita a **montagem**, em que é adicionada uma resina sobre a lâmina que será coberta pela lamínula.

OBJETIVO

Preparar lâminas permanentes para visualização em microscópio de luz e interpretar os cortes parafinados.

EPIS

Luvas, jaleco, máscara e óculos.

MATERIAL

- Formol 10%;
- Álcool nas concentrações 70%, 85%, 95%, 100%;
- Capela de fluxo laminar;
- Xilol;
- Parafina;
- Estufa;
- Micrótomo;
- Banho-maria;
- Platina aquecedora;
- Hematoxilina;
- Eosina;
- Resina sintética (Entelan);
- Lâmina
- Lamínula;
- Microscópio

PROCEDIMENTOS

1. Fixação. O material deve ser mergulhado em frasco contendo formol a 10% por um período de tempo de 12 a 24 horas, depende do material a ser processado e sua finalidade;
2. Desidratação. O material é mergulhado em frascos contendo álcool em concentrações crescentes a 70%, 85%, 95% e 100%;
3. Clareamento. O material deve ser banhado 3 vezes em xilol;
4. Inclusão. O material em recipientes contendo parafina líquida a 60° C é colocado em estufa na mesma temperatura, num total de 3 banhos de parafina, cada um com duração de 30 minutos cada. Em seguida, faz-se a inclusão propriamente dita, derramando-se numa forma plástica a parafina com o material;

5. Microtomia. Os blocos de parafina são cortados para a obtenção de cortes do material, os cortes devem ter a espessura de 5 a 6 micrômetros;
6. Banho-maria. Os cortes são distendidos em água aquecida a 56° C em aparelho aquecedor com termostato para evitar microdobras no material;
7. Pescagem. Consiste em mergulhar a lâmina na água e coletar o material esticado sobre a lâmina. Em seguida, a lâmina é colocada sobre uma platina aquecedora para que seja feita a secagem e a fusão da parafina impregnada no tecido evitando aparecimento de microdobras.
8. Coloração.

Desparafinar em xilol e hidratar:

1º Banho de xilol _____ 5min
2º Banho de xilol _____ 2min
3º Banho de xilol _____ 1min
Álcool 100% _____ 1min
Álcool 95% _____ 1min
Álcool 70% _____ 1min
Água _____ 2min

Corar com a hematoxilina (corante básico) durante 5 min; Lavar a lâmina em água corrente durante 5 minutos; Corar, pela eosina (corante ácido) durante 30 segundos; lavar em água destilada.

Desidratação e clareamento:

Álcool 70% _____ 1min
Álcool 95% _____ 1min
Álcool 100% _____ 1min
1º Banho de xilol _____ 5min
2º Banho de xilol _____ 2min
3º Banho de xilol _____ 1min

9. Montagem. Coloca-se uma gota de resina sintética (Entelan®) sobre o corte. Cobrir e comprimir com lamínula, de modo a espalhar-se a resina em fina camada entre a lâmina e lamínula.
10. Secagem. Secar a resina fixando a lamínula sobre a lâmina. Esta etapa pode ser feita em estufa a 37° C ou deixada em temperatura ambiente.

QUESTÕES

- 1) De que forma é adquirida a amostra para o preparo de uma lâmina histopatológica?

- 2) Cite uma doença que pode ser diagnosticada por meio do exame histopatológico.

REFERÊNCIAS

Etapas na preparação de lâminas histológicas contendo tecidos ou órgãos. Disponível em: <<http://histologiavet.blogspot.com/>>. Acesso em: 21 agosto de 2019.

ROSS, M. H., PAWLINA, Wojciech. Ross| Histologia – Texto e Atlas – Correlações com Biologia Celular e Molecular, 7ª edição. Guanabara Koogan, 2016.

PRÁTICA 4 - PUNÇÃO VENOSA

Autores: Caio Agostini Calheiros Grosso, Tiago César Gouvêa Moreira, Fernanda Mara Fernandes

INTRODUÇÃO

A punção venosa permite acesso à corrente sanguínea através de dispositivos adequados, assim requer uma seleção minuciosa do local a ser puncionado e uma eficiente técnica de penetração da veia (DE OLIVEIRA et al., 2014). As punções venosas são procedimentos invasivos que apresentam alto nível de complexidade técnico e científico, sendo realizado por profissionais com diferentes níveis de formação e exigindo dos mesmos habilidades psicomotoras (TORRES et al., 2005).

Em relação aos erros que podem ocorrer durante a coleta e o processamento das amostras sanguíneas, estes são numerosos, assim como as consequências destes erros são prejudiciais aos pacientes (PNCQ, 2016). Com isto, inúmeras fontes de erros podem comprometer o teste laboratorial prejudicando a avaliação médica do paciente, que por sua vez determina o diagnóstico e tratamento do mesmo. Desta forma, a fim de evitar erros desde a fase pré-analítica, analítica e pós-analítica os profissionais da área de saúde (receptionistas, técnicos de laboratório, bioquímicos, biomédicos, farmacêuticos e biólogos) devem estar atentos às possíveis falhas durante os procedimentos de punção até a liberação do resultado final (SBPC, 2010).

OBJETIVO

Realizar a técnica de punção venosa para coleta e processamento de amostras sanguíneas.

EPIS

Luvas, máscara, óculos e jaleco.

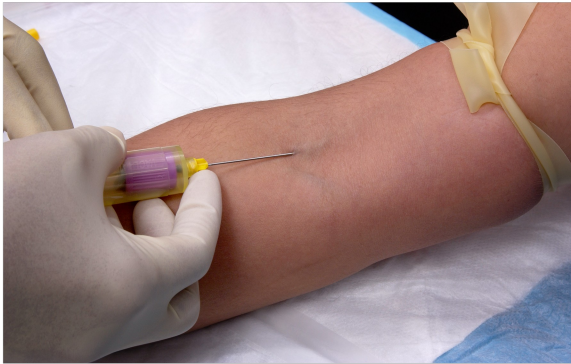
MATERIAL

- Gaze ou algodão hidrófilo;
- Álcool etílico a 70%;
- Etiquetas para identificar as amostras;
- Canetas esferográficas,
- Grade para os tubos;
- Descarpac (para o descarte de material perfuro-cortante e biológico);
- Garrote;
- Seringa;
- Agulha para obtenção de amostras sanguíneas;
- Curativos.

PROCEDIMENTOS

1. Estabelecer contato com o paciente a fim de informar o mesmo sobre a punção venosa;
2. Transcrever os dados pessoais do paciente para o tubo;
3. Conferir nome completo do paciente, nome da mãe e data de nascimento;
4. Realizar a lavagem das mãos com sabão e posterior assepsia com álcool 70%;
5. Utilizar equipamentos de proteção individual (EPI);
6. Coloque a agulha na seringa sem retirar a capa protetora;
7. Movimente o êmbolo para a retirada do ar;
8. Ajuste o garrote 7 cm acima do local da coleta, não podendo usar garrote continuamente por mais de 1 minuto;
9. Escolha a veia;
10. Realize assepsia do local da coleta com algodão umedecido com álcool a 70% (movimento de baixo para cima). Após a assepsia não tocar mais no local desinfetado;
11. Retire a capa da agulha;
12. Realize a punção venosa com ângulo aproximado de 30°, estando o bisel voltado para cima (Figura 4.1A);
13. Ao fim da coleta, solte o garrote (Figura 4.1B);
14. Retire a agulha (Figura 4.1C);
15. Pressionar o local da coleta até parar o sangramento e colocar uma bandagem adesiva (Figura 4.1D);
16. Encape a agulha;
17. Retire a agulha da seringa para evitar hemólise;
18. Transfira o sangue para um tubo e homogeneizar cerca de dez vezes tubos com anticoagulantes;
19. Descarte a seringa e agulha em local apropriado.

A



B



C



D



Figura 4.1: Punção venosa. (A) Inserção da agulha. (B) Demonstração da retirada do garrote e (C) da agulha. (D) Compressão após o termino da coleta.

QUESTÕES

- 1) Um paciente antes da coleta de sangue teve o local a ser puncionado fortemente friccionado, recebeu tapas ou encontrava-se com garrote por mais de 1 minuto. Sendo assim, se alguns dos três fatos tiverem ocorrido o que se pode esperar dos resultados bioquímicos (potássio, TGO, TGP e fosfatase alcalina) e hematológicos (hemograma) deste paciente?

- 2) Explique a diferença entre a punção venosa realizada com seringa e a vácuo e qual as vantagens e desvantagens de cada técnica.

- 3) Por que deve-se evitar garrotear o braço de pacientes com cirurgia de mama e não realizar a punção venosa no braço de pacientes com fístulas.

DE OLIVEIRA, A. K. A; DE MEDEIROS, L. P; MELO, G. S. M; TORRES, G. V. Passos da técnica de punção venosa periférica: revisão integrativa. **Arq. Ciênc. Saúde**, v. 21, n.1, p.88-95, 2014.

PNCQ (Programa Nacional de Controle de Qualidade). **Manual de coleta em laboratório clínico**, 2016. Disponível em:< http://www.pncq.org.br/uploads/2017/Infostecnicas/manual_2016_final_web.pdf>. Acesso: 9 de agosto de 2019.

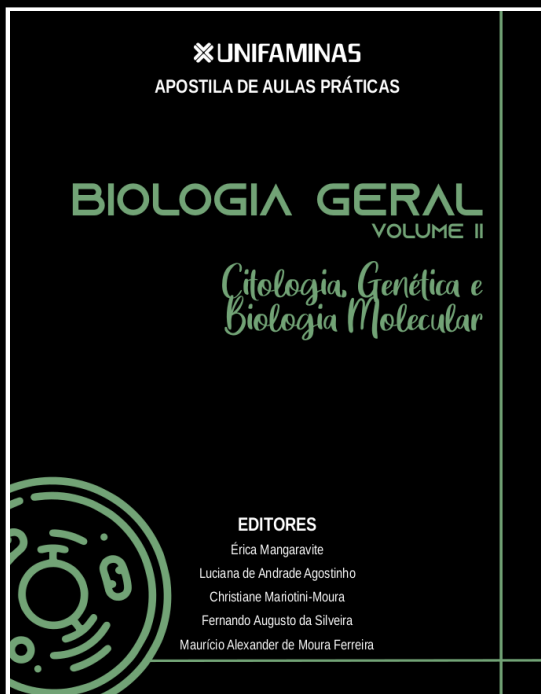
SBPC (Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica). **Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso**. 2. ed. Barueri, SP: Minha Editora, 2010.

TORRES, M. M; ANDRADE, D; SANTOS, C.B. Punção venosa periférica: Avaliação de desempenho dos profissionais de enfermagem. **Ver. Latino-am. Enfermagem**, v.13, n. 3, p. 299-304, 2005.

BIOLOGIA GERAL

VOLUME I

Introdução às Práticas em Laboratório



ISBN: 978-65-88341-00-1



CRL

9 786588 341001