

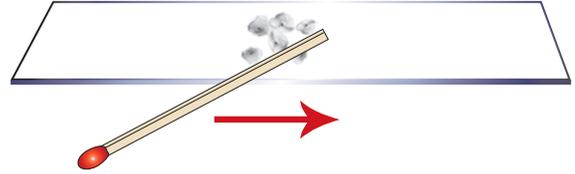
OBSERVAÇÃO DE CÉLULAS HUMANAS EM ESFREGAÇO DE MUCOSA BUCAL

Organização: Eliana Maria Beluzzo Dessen e Jorge Oyakawa
Diagramação: Regina de Siqueira Bueno

- 1** Com um palito de fósforo raspar, levemente, a parte interna da bochecha.



- 2** Fazer um esfregaço espalhando sobre uma lâmina de vidro o material raspado da bochecha.



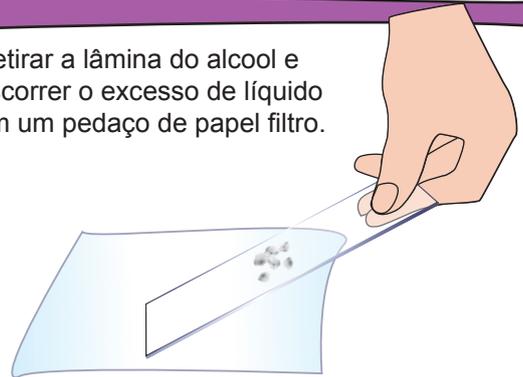
- 3** Fixar o material mergulhando a lâmina com o esfregaço em álcool 70%. Aguardar 2 minutos.



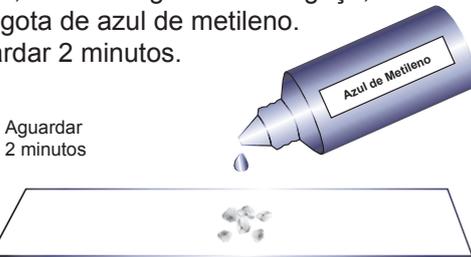
Aguardar
2 minutos



- 4** Retirar a lâmina do álcool e escorrer o excesso de líquido em um pedaço de papel filtro.



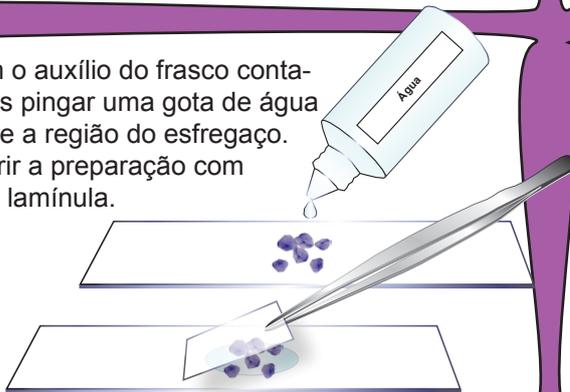
- 5** Colocar a lâmina sobre a bancada e pingar, sobre a região do esfregaço, uma gota de azul de metileno. Aguardar 2 minutos.



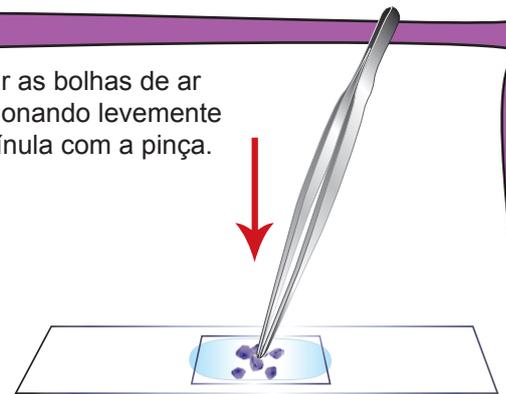
- 6** Com o auxílio de uma pisseta, remover o excesso de azul de metileno, jogando sobre a lâmina um jato de água.



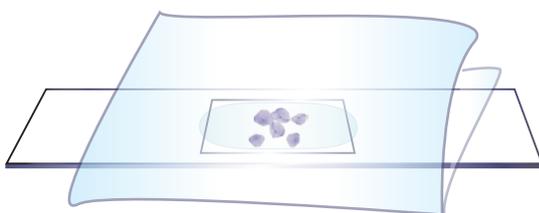
- 7** Com o auxílio do frasco contagotas pingar uma gota de água sobre a região do esfregaço. Cobrir a preparação com uma lamínula.



- 8** Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.



- 9** Colocar a preparação dentro de um pedaço de papel filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.



- 10** Observar ao microscópio o material, usando a objetiva de 10x e em seguida a de 40x. Girar vagarosamente o micrométrico para obter o melhor foco. Fazer um desenho das células observadas.



ETAPAS PREPARATÓRIAS:

Se você é professor e deseja aplicar esse protocolo em sala de aula siga as seguintes etapas preparatórias:

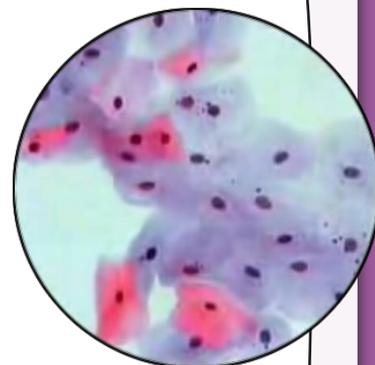
Antes da aula:

- Familiarizar os alunos com o uso do microscópio. Para tanto poderá recorrer à aula sobre microscopia, disponível nesta página.
- Providenciar a solução de azul de metileno 0,5%*.



Material suficiente para uma classe com 8 grupos de 5 estudantes.

- 8 frascos com lâminas de vidro para microscopia
- 8 frascos para o descarte das lâminas de vidro usadas
- 8 placas de Petri com lamínulas
- 8 placas de Petri com palitos de fósforo
- 8 recipientes para descarte dos palitos usados
- 8 pinças de ponta fina
- 8 rolos de papel higiênico fino e macio
- 8 frascos conta-gotas com azul de metileno 0,5%*
- 8 frascos conta-gotas com água
- 8 pissetas com água
- 8 recipientes com álcool 70% (tamanho suficiente para a lâmina mergulhada em pé)
- 8 pacotes de papel de filtro cortado em tiras de aproximadamente 7 cm x 25 cm.
- 8 pedaços de papel (\pm 60 x 40 cm) para cobrir a bancada
- 8 microscópios
- 8 conjuntos de protocolos para os grupos de alunos.
- 8 lápis e folhas de papel para desenho



*O azul de metileno é um composto aromático heterocíclico solúvel em água, com a fórmula molecular $C_{16}H_{18}ClN_3S$. Usado como corante e indicador, é um remédio de cor azul, vendido em farmácias comuns.

Observação: Qualquer tipo de frasco pode ser utilizado para conter as lâminas e lamínulas, como copinhos de iogurte, vidros de geléia, etc. Existem frascos apropriados, padronizados e baratos a venda em lojas especializadas de materiais para cosméticos e para laboratório (Praça da Sé)

ANEXO 1

Sugestão de questões para serem respondidas por grupos de estudantes após a visualização do esfregaço de bochecha.

1. Ao raspar a parte interna da bochecha, que tipo de tecido foi coletado?
2. Sugerir uma explicação para o tratamento do esfregaço com álcool 70%.
3. Se possível, faça uma nova preparação sem colocar o azul de metileno, observe ao microscópio e compare o resultado com o do material corado. Este procedimento poderá ajudar a responder pergunta: - Qual a função do azul de metileno?
4. Que estruturas você pode observar nas células da bochecha?
5. Por que as células da bochecha aparecem isoladas umas das outras e não unidas como em outros tecidos?
6. Você observou alguns pontos mais escuros na superfície das células? É provável que sejam algumas bactérias que existem normalmente na nossa boca e que ficam aderidas na mucosa. O tamanho destes microrganismos é em torno de 1 μm de diâmetro de forma que, para observá-las temos que usar a objetiva de 100x (objetiva de imersão) usando o óleo de imersão. Se não conhece esta prática, peça ajuda ao professor.

Respostas para as questões:

1. O epitélio de revestimento, ou seja, o tecido epitelial.
2. O álcool 70% é um fixador de materiais biológicos, isto é, ele preserva os componentes estruturais dos tecidos, preparando o material para a coloração.
3. O azul de metileno, sendo um corante básico, auxilia na visualização das células corando o citoplasma em azul claro e o núcleo em azul escuro.
4. Apenas o citoplasma e o núcleo. Não podemos observar nitidamente, mas sabemos que é a membrana citoplasmática que está delimitando o citoplasma.
5. As células da bochecha aparecem isoladas, pois o processo de raspagem com o palito rompeu a associação que existe entre elas.
6. Sim pontos mais escuros podem ser observados sobre o citoplasma e o núcleo das células e também é claro em regiões da preparação que não apresentam células eucarióticas. Ao utilizar o aumento de 1000x (objetiva de 100x e ocular de 10x), observa-se que algumas apresentam a forma esférica (cocos), outras cilíndricas (bacilos) e outras filamentosas que são as formas mais comuns das bactérias.

Sugestões de atividades correlatas

1. Existem outros experimentos sobre observação de células humanas que podem ser encontrados em: Temas de Biologia. Ed. Moderna. <http://www.moderna.com.br/moderna/didaticos/em/biologia/temasbio/>
2. Observar um esquema de célula animal (em um livro didático ou em outra fonte) e solicitar aos alunos que localizem, no esquema, as estruturas visualizadas na preparação. Solicitar uma explicação para o fato de não terem visualizado as demais estruturas da célula eucariótica.
3. Aplicar, em sala de aula, o jogo “Cara a cara com a célula”, disponível em: http://www.genoma.ib.usp.br/educacao/materiais_didaticos.php
4. Solicitar aos alunos uma comparação das estruturas internas de uma célula animal (eucariótica) com as de uma bactéria (procariótica). Pedir uma lista das estruturas comuns e não comuns aos dois tipos de células.

Utilizar esta aula de laboratório para iniciar o estudo das funções das diferentes estruturas celulares. Após este estudo, voltar ao jogo “Cara a Cara com as células” e solicitar que as perguntas sejam feitas apenas com relação às funções das estruturas celulares. Trata-se de um exercício de motivação e de avaliação do aprendizado sobre o tema célula.