

EQUIPAMENTO PARA SECAGEM DE LÂMINAS DE MICROSCOPIA E DESINFECÇÃO POR LUZ UVC

Matheus Vinicius da Silva

Graduando em Tecnologia em Sistemas Biomédicos pela Fatec Bauru

E-mail: mv5562658@gmail.com

Rian Cleiton Carraschi de Lima

Graduando em Tecnologia em Sistemas Biomédicos pela Fatec Bauru

E-mail: rianlima2001@gmail.com

Dra. Rogéria Maria Alves de Almeida

BIOLOGA . Docente na Fatec Bauru

E-mail: rogeria.almeida@fatec.sp.gov.br

RESUMO

Existem diversos processos laboratoriais que requerem a utilização de lâminas para realizar análises de amostras em microscópios. Porém, muitos destes processos requerem o uso de corantes que podem ser prejudiciais ao ambiente e levam um determinado tempo para secarem naturalmente na lâmina. Com base nisso surgiu a ideia de criar um projeto que secasse rapidamente as lâminas ao mesmo tempo que evita a contaminação do local em que está sendo realizado este procedimento. Este projeto se trata de um aparelho eletrônico, com medidas de 22 x 20 cm, que possui duas gavetas, uma para lâminas de laboratório com 11,5 x 3 cm e outra de 16,4 x 3 cm onde os líquidos serão escoados e depois serão descartados em locais adequados pelo operador. Internamente este projeto conta com 2 coolers que irão secar a lâmina utilizando ar externo. A desinfecção dos corantes será feita utilizando uma luz UV-C alojada próxima ao suporte de lâminas, alimentada por um reator eletrônico ligado a uma fonte de 12V. De acordo com testes realizados, esse sistema leva em torno de 6 minutos para fazer a secagem e desinfecção das lâminas e dos corantes. Com este projeto será possível agilizar o processo de secagem das lâminas de microscopia e preservar o meio ambiente.

Palavras-Chave : secagem. desinfecção. lâminas de microscopia, luz UVC

1 INTRODUÇÃO

Um laboratório é um ambiente de pesquisa e experimentos que pode ser utilizado em diversas áreas, e a sua principal diferença são os equipamentos utilizados para a realização de suas atividades. Alguns dos laboratórios que existem são os de análise clínica, biológicos e químicos, além dos laboratórios que estão presentes em escolas e universidades. (Souza, 2022).

Como várias das amostras presentes nos laboratórios da área biológica são invisíveis a olho nú, existe a necessidade de se utilizar equipamentos que possibilitem a visualização destas amostras, sendo um destes o microscópio. Existem vários tipos de microscópios, como o microscópio de luz ou fotônico que usa a luz visível (radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 400 e 800 nm), para fornecer uma imagem aumentada e invertida verticalmente (de cima para baixo) e invertida horizontalmente (da esquerda para direita) dos objetos em observação (Brancalhão ; Cavéquia, 2020). Para que a amostra seja observada no microscópio, é necessário a utilização de lâminas de microscópio, que irão sustentar a amostra durante a análise.

As lâminas de microscópio são objetos fundamentais para que sejam realizados uma série de análises de amostras presentes nos laboratórios da área biológica. Para tal feito, existem uma série de técnicas diferentes, porém, algo que várias destas tem em comum é a necessidade da secagem da lâmina no final do procedimento e do descarte apropriado dos corantes utilizados nestes procedimentos.

Sabendo da necessidade de agilizar o processo de secagem das lâminas de laboratório, tendo em mente a necessidade de realizar vários exames seguidos em alguns laboratórios, e do cuidado que se deve ter para que o ambiente não seja contaminado pelos corantes utilizados nesses procedimentos, este trabalho tem como objetivo desenvolver um equipamento que seque as lâminas e evite a contaminação do ambiente durante este processo.

Os objetivos são:

- a) Construir um equipamento que agilize a secagem de lâminas de microscopia
- b) Evitar que os corantes presentes nas lâminas contaminem o ambiente externo durante a secagem.
- c) Testar a eficiência de uma luz UV-C para desinfecção das lâminas durante o processo de secagem

2 REVISÃO DA LITERATURA

As lâminas de microscópio são objetos feitos de vidro ou outro material transparente como o plástico, para que possam ser iluminadas de forma uniforme. Possuem espessura de 1mm e bordas retas, arredondadas ou serrilhadas. São utilizadas em procedimentos de laboratório que requerem que um determinado material seja observado num microscópio, como lâmina de histologia, microscopia confocal e microscopia fluorescente. A lâmina tem como finalidade não só o transporte e sustento da amostra, mas também auxilia no foco óptico, com algumas possuindo superfície composta por uma camada de metal ou outro tipo de material. (Splabor, 2023).

Para observar a amostra presente na lâmina através de microscópio por luz é necessário a utilização de corantes, uma vez que tecidos estudados nas áreas de microbiologia, histologia, citologia são transparentes a olho nu. Dependendo do material observado é preciso utilizar técnicas e corantes diferentes como no caso de esfregaço hematológico. (Rivera, 2021).

Para que a amostra possa ser examinada no microscópio de luz após a aplicação dos corantes, é necessário esperar até que a lâmina esteja totalmente seca, isso é algo que pode levar um tempo variado dependendo do método que o laboratório emprega para realizar essa secagem. De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 222, de 28 de março de 2018 (ANVISA, 2018), existe a necessidade de realizar o descarte apropriado para os corantes utilizados nesses procedimentos, para evitar a contaminação do ambiente.

Dentre os diversos procedimentos realizados para se analisar uma amostra num microscópio, um dos mais conhecidos é a coloração de gram. Segundo Tortora, *et al.* (2016), este procedimento é utilizado para identificar bactéria gram positivas e negativas, onde a amostra é recoberta por um corante básico púrpura (normalmente violeta de genciana), lavada e recoberta em iodo, banhada em álcool e corada com safranina. Por fim, após a secagem da lâmina, pode-se verificar o tipo de bactéria analisando a cor da amostra, com gram positiva ganhando uma coloração violeta e gram negativa rosa.

Existem bactérias que são resistentes à produtos químicos, como álcool e ácidos, porém quando são coradas, resistem fortemente à descoloração, mesmo quando submetidas a ácidos fortemente diluídos e ao álcool absoluto. Essas bactérias são denominadas de bacilos álcool (BAAR). Na técnica de Ziehl-Neelsen, após o processo de coloração da amostra, a fucsina de Ziehl irá corar todos os elementos celulares de vermelho, porém após a descoloração com o álcool, somente os bacilos álcool-ácidos-resistente irão continuar preservando a cor vermelha, os demais elementos celulares na amostra descolorados. Então, para podermos visualizar os outros elementos celulares (descolorados) na amostra, deve-se utilizar azul de metileno, que dará um contraste, deixando os elementos celulares em azul e os bacilos álcool-ácidos-resistentes continuarão em vermelho. (Uemura, 2018).

Existe a possibilidade dos corantes utilizados na lâmina e da amostra contaminarem o ambiente caso não sejam tomados os devidos cuidados durante a manipulação destes, e para isso existem alguns acessórios que podem auxiliar na proteção ao ambiente. Uma opção é a luz ultravioleta (UV), segundo PHILIPS (2020) a luz UV impede a multiplicação de vários tipos de microrganismos quebrando a sua ligação química, como vírus, bactérias e esporos.

Para que este projeto seja algo diferente dos secadores de lâminas presentes no mercado, foi realizada uma análise de comparativos dos equipamentos e técnicas presentes atualmente.

Existem vários modelos de secador de lâminas por aquecimento, como por exemplo o modelo da Roundfin, que tem a capacidade de secar até 40 peças numa temperatura de 70°C. Suas medidas são de 340 x 340 x 115 MM e conta com um suporte para posicionar as lâminas.

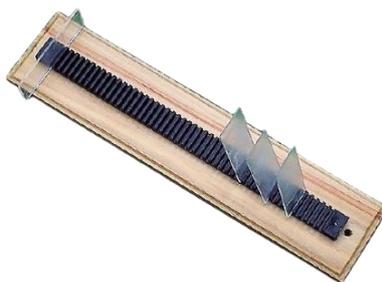
Figura 1 – Secador de lâminas por aquecimento



Fonte: https://pt.made-in-china.com/amp/co_funeralchina/product_Histology-Slide-Warmer-Tissue-Slide-Dryer-Microscope-Slide-Oven-with-Heating_ehyhggesy.html. Acesso em: 10 de Out. 2023

O secador de lâmina da empresa Proclin é um suporte de lâminas que irá fazer o processo de secagem através da gravidade, tem a capacidade de 50 lâminas por vez, seu material é composto por madeira com ranhuras de plástico, dimensões das lâminas devem ser 30 x 70 x 17 mm.

Figura 2 – Secador de lâminas por gravidade



Fonte: <https://proclinltda.com.br/Produto.aspx?idProduto=196207>. Acesso em 10 de out. 2023.

O secador de lâmina sd2800 por método misto é controlado por microprocessador, com rampas inclinadas a 45° graus para melhor colocação da lâmina ao mesmo tempo que escorre o líquido e aquece a região. É revestido com teflon para facilitar a limpeza, possui um painel para controle de temperatura da superfície e proteção contra sobreaquecimento. As dimensões do equipamento são de 324 x 272 x 83 mm, com peso de 2,75kg e tem capacidade de 60 lâminas.

Figura 3 – Secador de lâminas por método misto



Fonte: <https://www.medicaexpo.com/pt/prod/histo-line-laboratories/product-68747-657037.html>. Acesso em 10 de Out. 2023

Alguns laboratórios acabam optando pela utilização itens como secadores de cabelo para acelerar o processo de secagem da lâmina. O processo não danifica a amostra da lâmina desde que o secador esteja em temperatura ambiente ou com o ar sendo liberado a uma temperatura abaixo de 40°C. Para está análise foi utilizado o secador de cabelo Max travel da mundial, que possui ajuste de potência (velocidade de saída do ar) de 1200W, com está podendo ser regulada por meio de um botão, dimensões de 8,5 x 18,5 x 12 cm.

Figura 4 – Secador de cabelo mundial



Fonte: https://www.amazon.com.br/Secador-Travel-Mondial-SC-10-Vermelho/dp/B01643M5KY/ref=mp_s_a_1_3?crd=FV5LNF2JD9JG&dib=eyJ2ljoMSJ9.8KScPlpV00HypzLq_E5jsKtDFhSCKUgZNUdKh0k6stzCpR-nn3cu7tnkXTtVaQjhaWSlwjVKGtIeRvMCxpaC5OzbfqMrLbz1jnOQcv7KoPyUGTcNRDz3k2eGMosuFPcA_XtHo1oD3aFahu4m0yarN-K5xYNogTK9NFSjhOTi84ypUTNAomyuolsJryb_ZCq7cCmgRalgORRSu9LZLGDHFg.4cRkC8_K8VcxRx3WztBLUKgWfPta6euTyGXHNtGhKxE&dib_tag=se&keywords=secador+de+cabelo&qid=1714676998&srefix=secad%2Caps%2C548&sr=8-3. Acesso em 10 de Out de 2023.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material

O presente trabalho e testes foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia de Bauru – FATEC/Bauru. Com o objetivo de desenvolver um secador de lâminas com desinfecção utilizando luz UV-C.

O secador de lâminas inovador proposto neste projeto tem como finalidade não só agilizar o processo de secagem das lâminas, como também utilizar luz UV-C instalada na região superior do projeto (próximo ao compartimento de lâminas), além de ser o mais compacto possível para facilitar a locomoção do equipamento. A lâmpada ultravioleta terá um comprimento de onda de 294 nanômetros e será conectada a um reator eletrônico de 9 Watts que irá converter a energia elétrica de uma fonte de 12 Volts para os níveis de tensão ideais para a lâmpada ultravioleta.

Figura 5 – Lâmpada UV-C de 294 nm



Fonte: Autoral

Figura 6 – Reator eletrônico



Fonte: Autoral

O material utilizado para montar o equipamento será o filamento preto PLA. O projeto será gerado na impressora 3D, e a cor preta é fundamental para que a luz UV haja com mais eficiência e impeça o vazamento no ambiente externo. A intenção é de que o equipamento seja leve e pequeno para facilitar a locomoção.

3.2 Métodos

O projeto é composto por 2 bandejas que serão movimentadas para dentro e fora do equipamento de forma manual, com o auxílio de roldanas internas. Uma bandeja, com medidas de 11,5x3???, será um suporte para as lâminas com inclinação, onde até 5 lâminas serão colocadas para passarem pelo processo de secagem e desinfecção. Esta bandeja conta com um sistema que a deixa levemente inclinada, assim, utilizando a gravidade para auxiliar na secagem. A outra bandeja, com medidas de 16,4x3???, será o local onde os líquidos presentes nas lâminas irão cair, para que não haja acúmulo de umidade no interior do projeto e estes líquidos possam ser descartados em locais apropriados de acordo com suas normas.

Para a ventilação serão utilizadas duas hélices (coolers), que irão realizar a secagem da lâmina utilizando ar externo. Todos os componentes eletrônicos (fonte 12V, reator eletrônico, cooler e luz UV-C) estão conectados a uma chave de liga e desliga, fazendo com que todos sejam acionados ao ligar o equipamento.

Figura 7 – Cooler



Fonte: Autoral

Figura 8 – Chave liga e desliga



Fonte: Autoral

3.3 Testes

Foi realizado um teste para analisar se a ventilação do ar gerada pelo cooler seria eficaz para agilizar o processo de secagem da lâmina de microscopia. Foram utilizadas 4 lâminas de microscopia molhadas, com 2 ficando inclinadas (de modo que a gravidade auxiliasse na secagem) e secando em temperatura ambiente, e outras 2 lâminas ficaram inclinadas de frente para um cooler, como pode-se observar na Figura 9.

Figura 9 – Teste de secagem



Fonte: Autoral

3.4 Testes microbiológicos

Para comprovar a eficácia do processo de desinfecção realizado pela luz UV-C, foi realizado um teste de eficiência. Neste teste foram utilizados, uma lâmpada de luz UV-C, 7 placas de Petri contendo agar Mac Conkey , 4 lâminas de microscopia, corante cristal violeta e a bactéria *Escherichia coli*. A lâmpada de luz UV-C foi instalada na parte superior de uma caixa espelhada, para evitar contaminação do ambiente (Figura 10 A e B).

Inicialmente, foi feita uma suspensão da bactéria *E.coli* proveniente de uma cepa padrão do Instituto Lauro Souza Lima, onde foi coletada uma alçada da bactéria , e semeada em placa de Petri contendo agar Mac Conkey, incubada em uma estufa a 37 °C por 24 horas, para assim, confirmar que o microrganismo estava viável, antes dos testes.

Para realização dos testes de eficiência da luz UV-C , foram coletadas 2 alçadas da *E.coli* e diluída em 9 ml de água, onde foi adicionado 9 gotas do cristal violeta, preparando assim um corante contaminado para realizar o teste. Foram utilizadas 4 placas de agar Mac Conkey, onde foi semeado 50 ul da suspensão da bactéria com corante cristal violeta.

3.4.1 Teste de eficiência da Luz UV-C

Foram utilizadas 2 placas com agar Mac Conkey contaminadas com a *E.coli* presente no corante cristal violeta. Estas placas foram colocadas sem tampa no interior da caixa espelhada e deixadas por 1 minuto em contato com a luz UV-C, logo em seguida, mais 2 placas passaram pelo mesmo processo, porém, foram expostas durante 5 minutos em contato com a luz UV-C, e foram incubadas a 37 °C por 24-48 horas (Figura 10 A e B).

Foram feitos testes utilizando 4 lâminas de microscopia, que foram contaminadas com 30 ul da suspensão bacteriana com cristal violeta, e, assim como as placas, 2 destas lâminas foram expostas a luz UV-C por 1 minuto, e outras 2 lâminas permaneceram por 5 minutos sob ação da luz UV-C. Foi coletada uma alçada do material das lâminas, e semeados em placas com agar Mac Conkey , incubadas a 37°C por 24-48 horas. Após o período de incubação, foram feitas as contagens de UFC/ml em um contador de colônias CpPlus 600.

Figura 10 A – Caixa preta para proteção da radiação UV-C



Fonte: Autoral

Figura 10 B – Parte interna da caixa com espelhos e luz UV – C



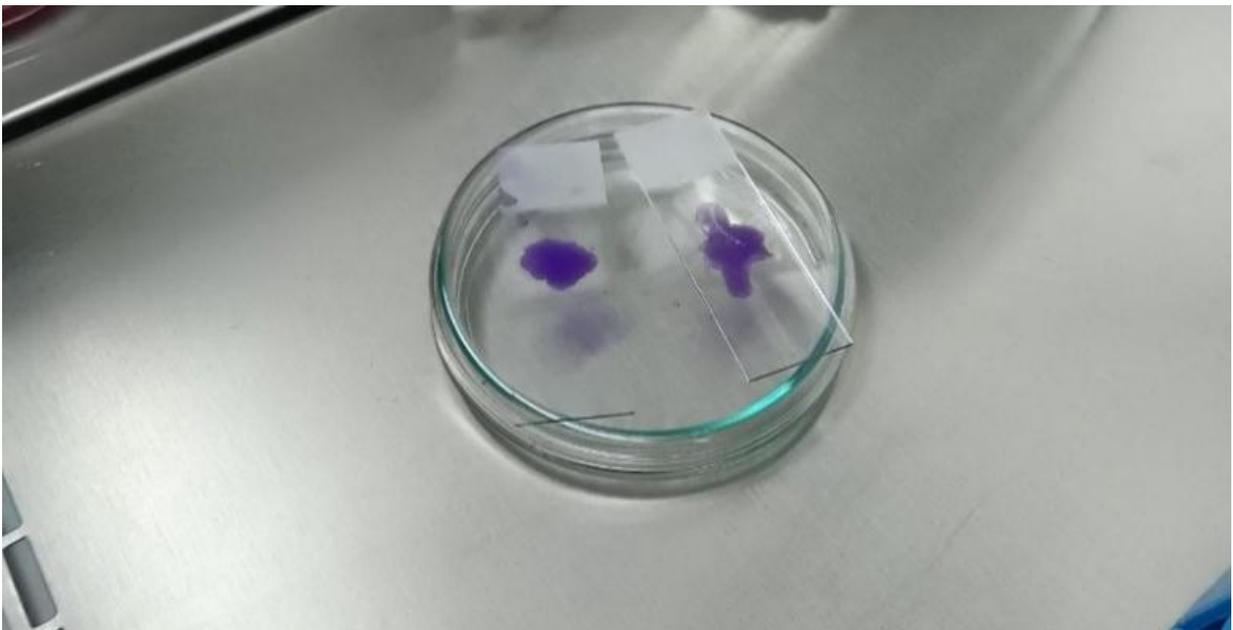
Fonte: Autoral

Figura 11 – Material utilizado no teste de eficiência da luz UV-C



Fonte: Autoral

Figura 12 - Lâminas de microscopia contaminadas com o corante



Fonte: Autoral

Figura 13 - Estufa com as placas contaminadas



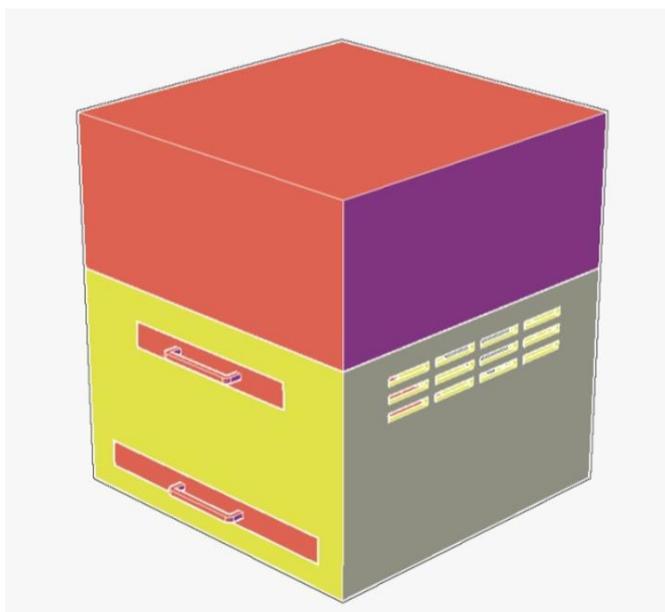
Fonte: Autoral

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Resultados do projeto

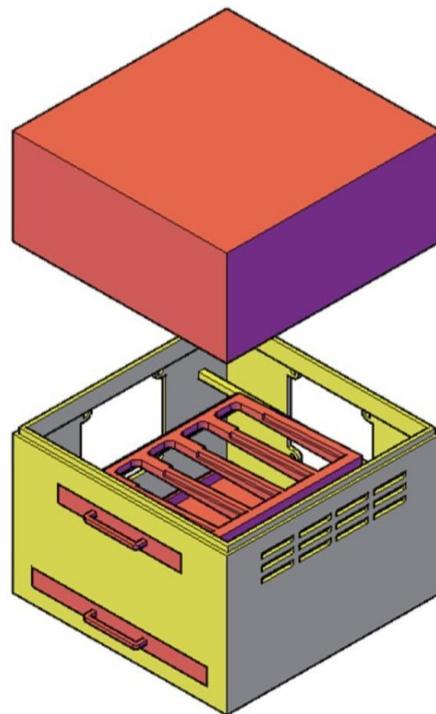
Com o auxílio do programa AutoCAD foi possível criar o desenho tridimensional necessário para que seja possível observar as medidas do projeto para que o material ideal seja adquirido e que o aparelho seja montado.

Figura 14 - Vista Frontal e esquerda do secador de lâminas com 2 gavetas frontais



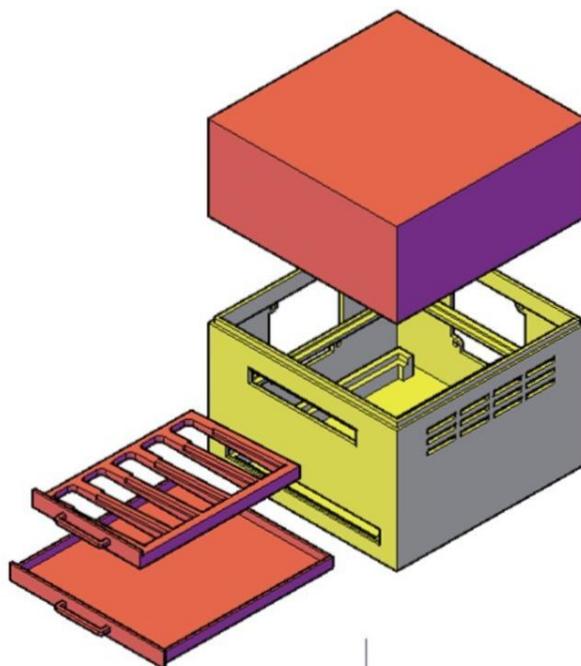
Fonte: Elaborado pelos autores

Figura 15 - Interior do secador de lâminas com divisões para 5 lâminas



Fonte: Elaborado pelos autores

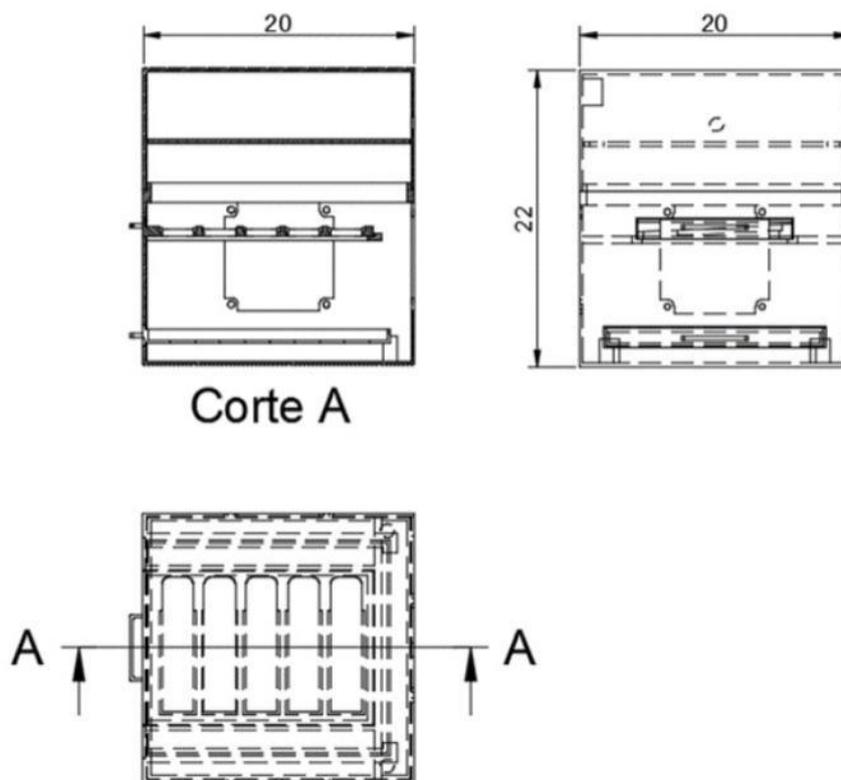
Figura 16 - Gavetas do secador de lâminas



Fonte: Elaborado pelos autores

Nas Figuras 14, 15, e 16 é possível analisar o projeto e demonstrar suas funcionalidades de secagem e coleta de líquidos, impedindo assim a contaminação externa. Ao posicionar as lâminas no suporte, as hélices localizadas nas regiões superiores irão puxar ar externo para dentro do equipamento. Este conta com uma saída de ar na região oposta ao suporte de lâminas, realizando assim a sua secagem, além disso, todos os líquidos irão escorrer para a gaveta inferior, que pode ser retirada para que os corantes sejam descartados pelo operador. A luz ultravioleta UV-C alojada na parte superior do interior do projeto, é fixa por 4 parafusos ao seu redor e poderá ser removida facilmente ao retirá-los, para que assim seja possível realizar limpezas internas ou troca da lâmpada de luz UV-C, quando necessário.

Figura 17 - Medidas do secador de lâminas



Fonte: Elaborado pelos autores.

Na Figura 18 é possível analisar as medidas escolhidas para a criação deste projeto. Estas medidas foram escolhidas de tal forma que o equipamento conseguisse exercer suas funções e fosse o mais portátil possível.

4.2 Resultados dos testes

O teste de secagem resultou em análises positivas. As lâminas que estavam secando em temperatura ambiente, sem o auxílio do cooler, levaram cerca de 20 minutos para secarem totalmente, enquanto, as outras 2 lâminas que estavam próximas ao dispositivo ficaram totalmente secas em 6 minutos.

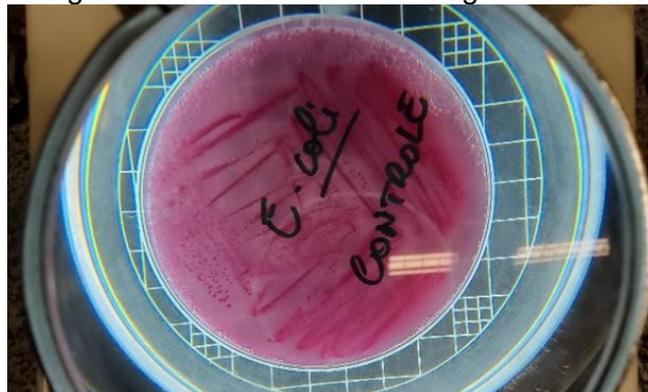
Figura 18 – Resultados do teste de secagem



Fonte: Autoral

Observou-se que após o período de incubação, a bactéria E.coli, teve crescimento intenso com colônias rosa - choque, característica dessa bactéria fermentadora da lactose, comprovando que a bactéria esta viável para os testes de eficiência.

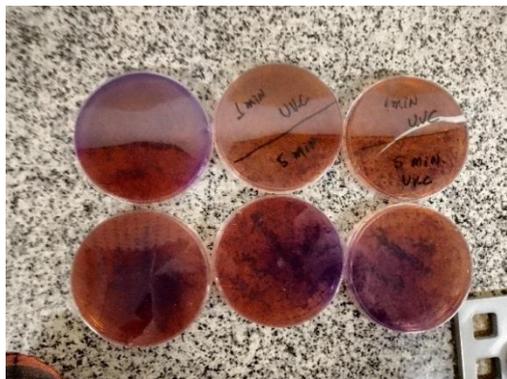
Figura 19 – Bactéria E.coli em agar Mac Conkey



Fonte: Autoral

Observou-se que nas placas de agar Mac Conkey, não foi detectado crescimento da E.coli nos meios que foram expostos a luz UV-C por 1 minuto e por 5 minutos, evidenciando a eficiência do processo de desinfecção dos corantes.

Figura 20 – Teste de eficiência da luz UV-C com a E.coli em agar Mac Conkey



Fonte: Autoral

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Muitos laboratórios têm a necessidade de utilizar corantes para que assim possam examinar amostras em microscópios. Com isso é muito importante que haja uma determinada agilidade na secagem devido a quantidade de análises que precisam ser feitas e um correto descarte dos corantes utilizados. Visando isso, o presente trabalho apresentou a ideia de criar um projeto de secador de lâminas portátil que acelera a secagem da lâmina e utiliza luz UV-C para impedir a contaminação do ambiente, sendo este equipamento um diferencial dos presentes no mercado atualmente. De acordo com os resultados obtidos nos testes de eficiência, conclui-se que o secador de lâminas é eficiente, rápido, aliado ao processo de desinfecção de corantes por luz UV-C altamente eficiente.

6 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº 222, de 28 de março de 2018**. Regulamenta as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/rdc-222-de-marco-de-2018-comentada.pdf/view>. Acesso em: 10 de out. 2023.

BRANCALHÃO, R.M.C, CAVÉQUIA, M.C. O microscópio óptico. 18 de Mai. 2020. Disponível em: <https://www.unioeste.br/portal/microscopio-virtual/o-microscopio-de-luz>. Acesso em 2 de Nov. 2023.

PHILIPS. **Air, surface and object disinfection using UV-C light**. Philips. 2020.

RIVERA, E. **Corantes usados na preparação de lâminas de microscópio**. 2021. Disponível em: https://www.ehow.com.br/corantes-usados-preparacao-laminas-microscopio-lista_67413/. Acesso em 25 de Ago. 2023.

SPLABOR. **O que são Lâminas e qual a sua importância na microscopia**. 2023. Disponha em: <https://www.splabor.com.br/blog/microscopio-estereoscopio/o-que-sao-laminas-e-qual-a-sua-importancia-na-microscopia/amp/>. Acesso em: 25 de Ago. 2023.

SOUZA, P. **Conceito de laboratório**. 2022. Disponível em: <https://conceito.de/laboratorio>. Acesso em: 18 de Ago. 2023.

TORTORA *et al*. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2016, 935 p.

UEMURA.E. **Coloração ziehl-neelsen**. Laborclin. 2018. Disponível em: <https://cdn.media.interlabdist.com.br/uploads/2021/01/620532-Descorante-de-Ziehl-2018.pdf>. Acesso em: 25 de Abr. 2024.