



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Histofisiologia Animal

Aula 2 – Técnicas Histológicas

Professora Melissa Kayser



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Técnicas Histológicas

Para análise em microscopia óptica de luz é necessária a preparação de lâminas com corte de tecidos muito finos.



Passos para confecção de lâminas

1. Coleta do Material

- Partes de órgãos são retiradas com auxílio de um bisturi, pinça ou lâmina de barbear;
- Não é indicada a extração de porções grandes *(já que o objetivo é obter uma camada fina para ser analisada em microscópio óptico)*



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA





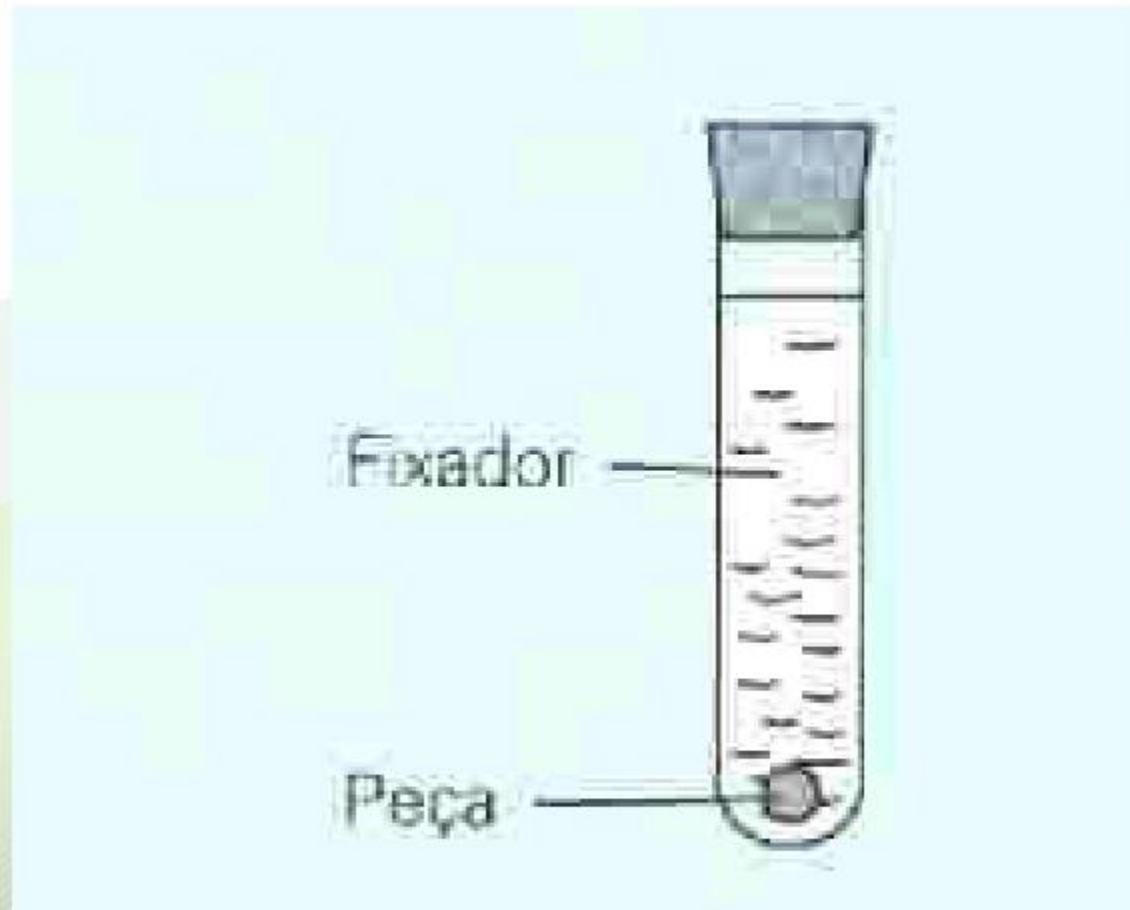
Passos para confecção de lâminas

2. Fixação do Material

- Consiste na utilização de procedimentos físicos ou químicos para imobilizar as substâncias constituintes das células e tecidos (*fornecendo maior resistência para suportar as demais etapas*);
- Os agentes fixadores mais utilizados são o formol tamponado e o líquido de Bouin (*ambos fixam as proteínas, evitando sua degradação*).



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA



Fixação → O volume do fixador é 20x o volume da peça.



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Passos para confecção de lâminas

3. Clivagem

— Consiste na fragmentação do tecido em pedaços menores.



Passos para confecção de lâminas

4. Descalcificação

- Retirada do cálcio dos tecidos para poder confeccionar as lâminas.
- São usados ácidos e EDTA (é o de escolha).



Passos para confecção de lâminas

5. Processamento

- Desidratação

— É retirado a quantidade de água para poder imobilizar com a parafina.

- Diafanização

— É a clarificação utilizando o Xilol.



Passos para confecção de lâminas

6. Inclusão ou Infiltração

- Consiste na impregnação do tecido com uma substância firme que permita, posteriormente, seccioná-la em camadas delgadas;
- A parafina é a mais utilizada nesse procedimento.



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA





Passos para confecção de lâminas

7. Microtomia

- Consiste em utilizar um micrótomo para obter cortes sucessivos, delgados e uniformes, a partir de blocos de parafina com peças incluídas.
- Esse aparelho é formado por lâmina (fixa ou descartável) de aço, afiada, em um braço ao qual se prende o bloco e que se desloca verticalmente.



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA





INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Técnica de Criomicrotomia

(Microtomia por Congelamento)

- Geralmente utilizada em casos específicos (*ex: cortes urgentes – exames patológicos*);
- Aparelho utilizado : Micrótomos de Congelamento ou Criostatos;
- Criostato – cortes são mais finos



Passos para confecção de lâminas

Montagem da lâmina histológica

- As fitas obtidas a partir do micrótomo são transferidas para um banho-maria, como o auxílio de uma pinça, para serem distendidas;
- A água deve estar entre 3 a 8°C abaixo do ponto de fusão da parafina utilizada;



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

- Os cortes são separados individualmente em lâminas de vidro;
- As lâminas são colocadas em estufa a 60°C para secagem (1 a 24 hrs);



Passos para confecção de lâminas

8. Coloração

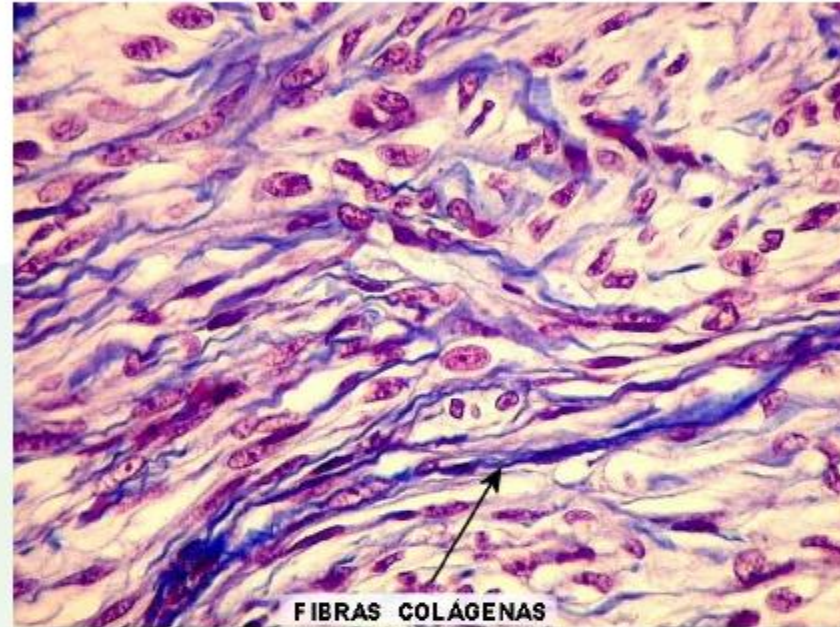
- A maioria dos preparados histológicos observados nas aulas práticas são corados com uma combinação de 2 corantes: **Hematoxilina & Eosina (H.E.)**;
- A **hematoxilina** se comporta como um corante básico e, assim, cora constituintes celulares e intercelulares **ácidos** em cor **roxo-azulado**;
- A **eosina** se comporta como corante ácido e, assim, cora as **estruturas acidófilas** (ex: colágeno) em **rósea-avermelhado**



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Corantes utilizados na rotina de laboratórios

Tricrômico de Masson



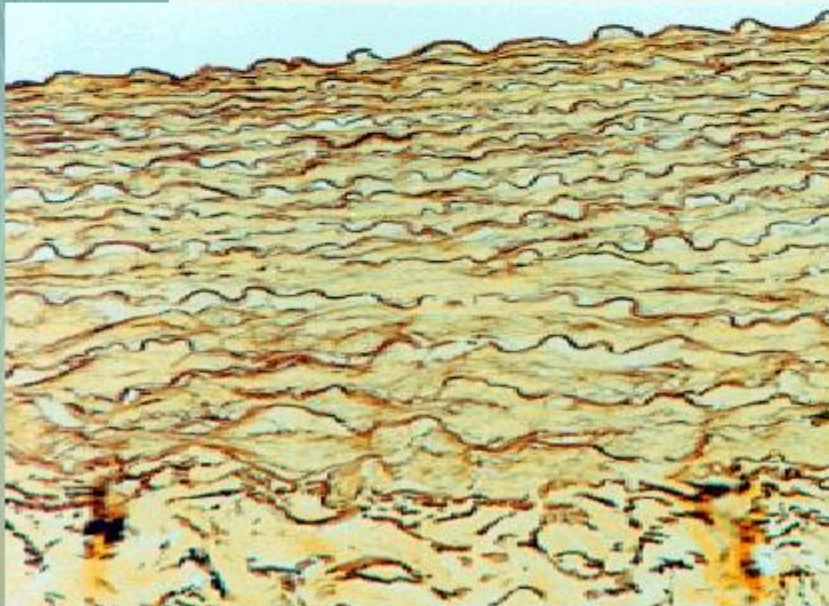
- cora núcleo de azul escuro;
- citoplasma, queratina e músculo – vermelho;
- Mucigênio e colágeno – azul claro.



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Orceína

→ cora fibras elásticas de marrom



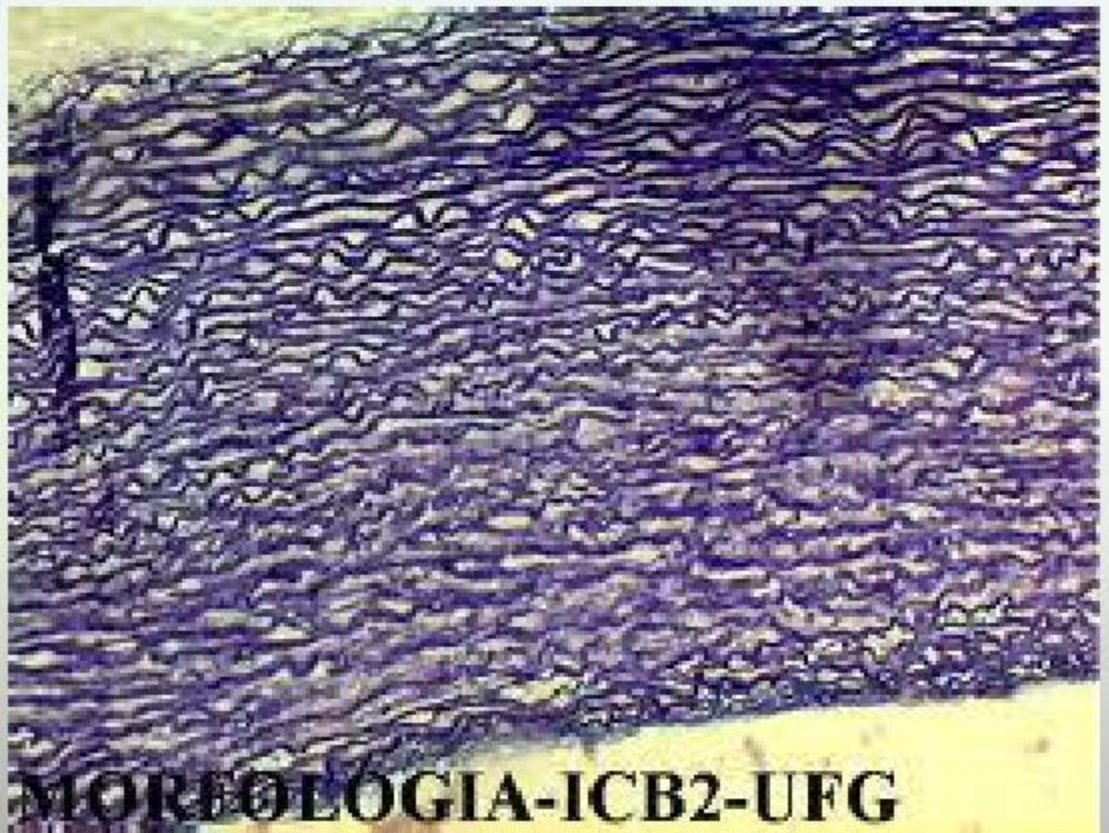
Artéria aorta



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Weigert

→ cora fibras eláticas de azul





INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Prata

→ Cora fibras reticulares de preto



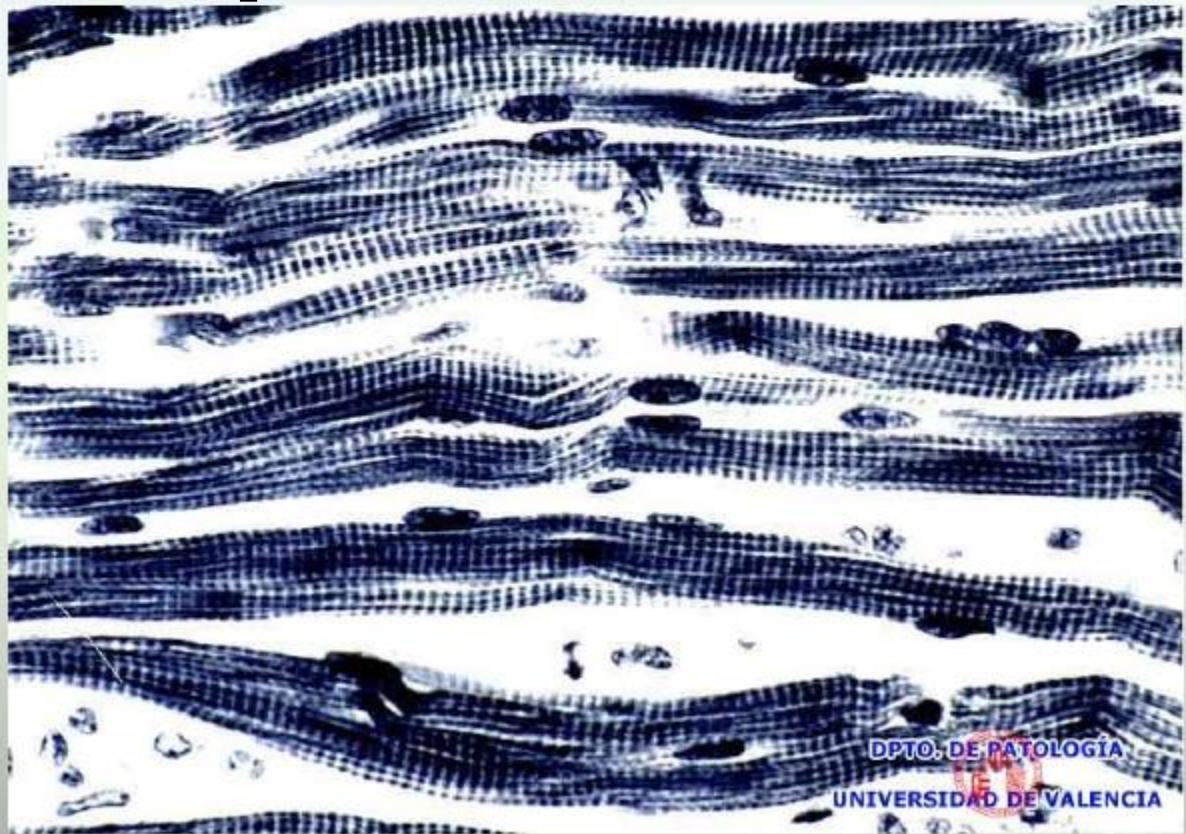
astrócitos



INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Hematoxilina férrica

→ Cora as estriações dos músculos, os núcleos e os eritrócitos de preto.

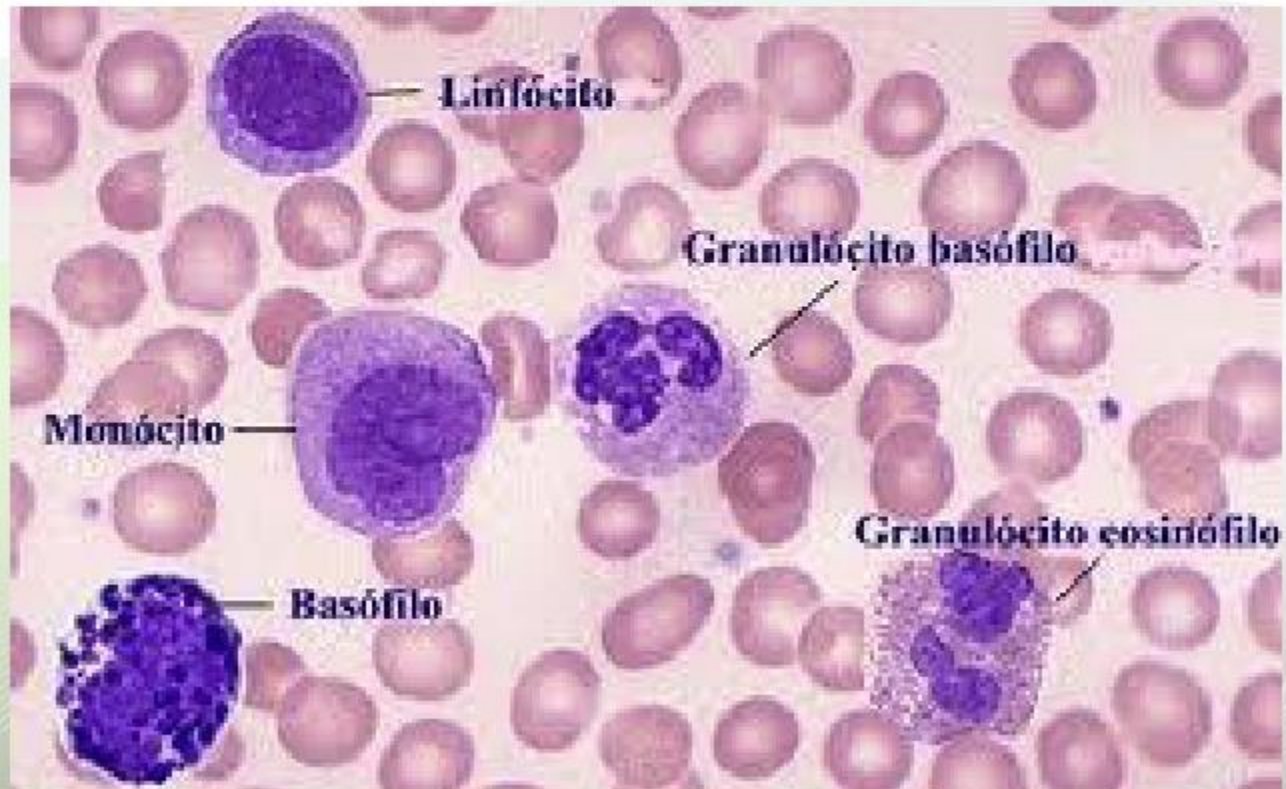




INSTITUTO FEDERAL
SANTA CATARINA

Wright e Giemsa

→ especializado em células sanguíneas





Passos para confecção de lâminas

9. Selagem

— Usa a Goma de Damar e coloca a lamínula para deixar uniforme e proteger as lâminas histológicas produzidas.

10. Observação ao Microscópio



1. Remoção do
tecido de animal



2. Segmentação do
tecido em pedaços



3. Fixação



4. Desidratação



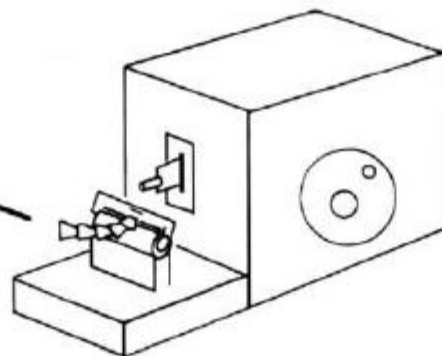
5. Inclusão

a. Em parafina para a ML
b. Em plástico para a ME



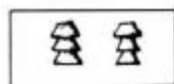
6. Microtomia

a. Com navalhas de aço para a ML
b. Com navalhas de vidro ou
diamante para a ME



7. Montagem e coloração dos cortes

a. Sobre lâminas de vidro para a ML
b. Sobre grades de redes metálicas
para a ME



a



b

