

NATHAN MAURAT MENDES

**Atividades Práticas Laboratoriais no Processo de Ensino-Aprendizagem: Um Relato de
Experiência**

Rio de Janeiro

2022

NATHAN MAURAT MENDES

Atividades Práticas Laboratoriais no Processo de Ensino-Aprendizagem: Um Relato de Experiência

Monografia apresentada à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Orientadora: Tainah Silva Galdino de Paula, DSc.

Corientadora: Anakeila de Barros Stauffer, DSc.

Rio de Janeiro

2022

*Dedico este trabalho à minha mãe, Micheline
Menezes Maurat, e minha irmã, Nathalia Luz Maurat Mendes.*

AGRADECIMENTOS

À professora Tainah Silva Galdino, por acreditar em mim e me ajudar a me desenvolver em tantas áreas, ter a iniciativa de oferecer uma grande oportunidade para que aprendesse tanto com ela, pelo carinho e dedicação que demonstrou e ainda demonstra comigo.

À professora Flávia Coelho, pelo suporte e atenção que se dirige a mim em todos esses anos e por sempre estar disposta a me ensinar e pelo carinho que tem comigo.

À professora Simone Ribeiro, por sempre estar disposta a conversar e me auxiliar, tanto em questões da escola quanto pessoais e ao carinho que tem comigo.

À professora Fernanda Bottino, por estar me auxiliando sempre que pode e por participar tanto dos meus processos de estudo e pelo carinho que foi dirigido a mim.

Ao professor Flávio Paixão, por seu bom humor e suas constantes palavras de incentivo e sua boa energia contagiante.

À professora Cynthia Macedo Dias, por ter conversado comigo por tanto tempo sobre os mais diversos assuntos e me ensinado a fotografia como expressão da arte.

À minha mãe por sempre estar ao meu lado, mesmo nas situações mais adversas sempre me apoiou com tudo que pode, e que nunca desistiu de mim ou me deixou desistir e que sempre me incentivou a seguir meus sonhos.

À minha irmã por sempre me apoiar nos mais diversos momentos ao longo destes anos.

Ao meu avô, Idimar Maurat, que considero muito, principalmente como uma referência de moral, caráter e virtude.

À minha avó, Maria Vera Menezes Maurat, a quem tenho grande consideração, por seus conhecimentos, conselhos e sabedoria, não só para mim, mas para a minha família como um todo.

Ao meu pai, Marcelo Antony Souza Mendes, por estar presente, me apoiar sempre que pode e me aconselhar sobre diversas situações.

*“Não se pode criar
experiência. É preciso
passar por ela.”*
(Albert Camus)

RESUMO

A inserção dos alunos do curso de Biotecnologia no mundo do trabalho, através do estágio curricular, possibilita a consolidação dos conhecimentos teóricos socializados e construídos ao longo da formação técnica. A importância deste estudo se deu numa análise da integração do conhecimento entre as matérias teóricas e práticas em suas respectivas disciplinas, assim proporcionando, uma perspectiva mais abrangente sob a ótica do aluno em relação ao conhecimento adquirido ao longo do curso. Este estudo teve como objetivo analisar as atividades práticas laboratoriais como ferramenta no processo de ensino-aprendizagem no curso técnico de nível médio em saúde. Para a realização desse trabalho, foram desenvolvidas metodologias práticas em quatro áreas de conhecimento (Biossegurança, Biologia Molecular, Microbiologia e Imunologia), sendo elas: processos integrativos de Biossegurança em um laboratório de práticas de ensino, extração de DNA, tratamento com enzima de restrição, PCR qualitativa e eletroforese; bem como coloração e identificação de fungos, calibração de pHmetro, preparo de meio de cultura, teste cromatográfico, diluição seriada e ensaio imunoenzimático. Este trabalho foi desenvolvido por um aluno diagnosticado com a síndrome de Asperger (TEA) mostrando que, sob uma orientação adequada com professores experientes em seus respectivos campos de trabalho, o aluno pode se desenvolver em sua plena potencialidade.

Palavras-chave: Práticas Laboratoriais, Ensino-aprendizagem, Biotecnologia

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. OBJETIVOS | 18 |
| 2.1 Objetivo geral | 18 |
| 2.2 Objetivos específicos | 18 |
| 3. METODOLOGIA | 19 |
| 4. RESULTADOS: | 33 |
| 5. CONCLUSÃO: | 43 |
| 6. REFERÊNCIAS | 44 |

1. INTRODUÇÃO

A Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio (EPSJV) é uma unidade técnico-científica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) que tem como atuação primordial o ensino técnico de nível médio em saúde profissionalizante para a formação no mundo do trabalho. A EPSJV tem a função de contribuir para a formação de trabalhadores na crescente área da Saúde, propiciando uma força de trabalho mais qualificada na crescente área da saúde, ofertando mão de obra qualificada (EPSJV, 2005).

A EPSJV integra o conceito entre educação e tecnologia, tratando da união entre a formação intelectual e o trabalho produtivo (Saviani, 2003). Dessa forma, a EPSJV possui como eixo central o trabalho como princípio educativo associado à pesquisa (Pereira e Ramos, 2006).

O projeto político-pedagógico da EPSJV tem como compromisso a educação profissional em saúde, em nível médio e na formação continuada, ressaltando conceitos sobre ética, política e técnica. Portanto, a proposta da politécnica em saúde se baseia nos eixos voltados para a formação de jovens e trabalhadores do SUS e da Ciência e Tecnologia em Saúde, além da formação de docentes voltados para a área de educação profissional (Pereira e Ramos, 2006).

Desta forma, o desenvolvimento de um jovem técnico qualificado para ser inserido no mundo do trabalho na área da saúde, em que são normalmente empregadas tecnologias e procedimentos de maior complexidade, está associado ao teórico e prático, principalmente aos que se aplicam capaz de ampliar seus conhecimentos adquiridos previamente ao longo do curso.

Um dos cursos ofertados pela EPSJV é o Curso Técnico em Biotecnologia que possibilita que o profissional esteja apto, segundo o Catálogo Nacional de Cursos do MEC (2016), a executar atividades laboratoriais e industriais relativas aos processos biotecnológicos, principalmente aos que se aplicam à área da Saúde, tais como à elaboração de novos produtos e processos e à produção de vacinas, diluentes, biofármacos e reativos para *kits* de diagnóstico. Sendo assim, a inserção dos alunos do curso de Biotecnologia no mundo do trabalho, através do estágio curricular, possibilitará a consolidação dos conhecimentos teóricos socializados e construídos.

Durante a formação técnica, os alunos têm aulas com diversos profissionais especialistas em suas áreas de concentração, o que torna o processo de ensino-aprendizagem mais interessante

por abordar fatos vivenciados em seus cotidianos. Esses professores constituem o quadro de profissionais da escola, sendo alguns convidados de unidades parceiras à mesma. O curso é composto por 4 anos e, no último ano, os alunos são inseridos no mundo do trabalho através do estágio. Além disso, para a conclusão do curso, um trabalho de monografia que visa à iniciação científica deverá ser realizado.

O estágio é uma oportunidade para o aluno ter a vivência direta com a realidade profissional, de forma que, ter contato com o ambiente de trabalho é uma excelente forma de desenvolver o aluno em sua capacidade de pensamento crítico, responsabilidade e iniciativa, desenvolvendo habilidades práticas e teóricas adquiridas ao longo do curso.

Há uma possibilidade que a própria Fiocruz absorva parte desses trabalhadores qualificados nas suas unidades científicas, uma vez que a EPSJV faz parte da Fiocruz.

"Nessa perspectiva é que se delinea o presente estudo que tem por objetivo analisar a importância das atividades práticas realizadas no curso técnico de nível médio em Biotecnologia, como estratégias fundamentais para o desenvolvimento do processo de ensino-aprendizagem. Para isso, selecionamos cinco áreas de conhecimento voltadas para a habilitação técnica: Biossegurança, Biologia Molecular, Microbiologia e Imunologia. Cada área está vinculada a um professor especialista que promove a realização de experimentos nos laboratórios de ensino da EPSJV. Um caderno de protocolos é usado pelo discente para descrever as técnicas propostas por cada professor. Esse caderno tem um propósito para além da descrição citada: servir também como instrumento de avaliação do aluno durante o estágio.

Nesse sentido, o caderno de protocolos, além de ser um registro das atividades práticas realizadas, se institui como um elemento de reflexão crítica sobre o próprio processo formativo, constituindo-se, neste projeto, como um documento de pesquisa. Segundo Piaget (1972), é mais provável que os alunos consigam adquirir uma maior quantidade de conhecimento através de situações concretas, e as atividades práticas são uma importante ferramenta de aprendizagem, nas quais o aluno tem a oportunidade de observar, pensar e construir.

A realização das práticas laboratoriais é fundamental para a formação do futuro técnico em Biotecnologia. Durante essa etapa, a proposta pedagógica se volta ao desenvolvimento das habilidades técnicas do estudante, a fim de ampliar os conhecimentos adquiridos durante as aulas

teóricas. Sendo assim, tanto as aulas práticas quanto o estágio, propiciam uma oportunidade de contato direto e uma vivência em ambiente profissional.

No meu caso, o estágio se configurou de forma particular, a fim de viabilizar a finalização dessa etapa formativa em minha vida. Após ter sido diagnosticado com a síndrome de Asperger no início do Ensino Médio, passei por vários enfrentamentos durante a minha caminhada como estudante não-neurotípico. Essa síndrome está dentro do transtorno do espectro autista (TEA), podendo ser diagnosticada em qualquer fase da vida, e sendo considerada um autismo de alto funcionamento (Tantam, 1988).

No que tange ao TEA, de acordo com os estudos de Asperger (1979), algumas crianças dividem-se naturalmente em grupos. No entanto, algumas crianças que se apresentam nesse espectro possuem dificuldade em se socializar, mesmo que seja com outras crianças, e de expressar emoções, embora as tenha. Muitos desafios são impostos devido à necessidade de interação social. Apesar dessa dificuldade de socialização, não há comprometimento intelectual. Esse conjunto de características é denominado como Síndrome de Asperger.

A proposta inclusiva ofertada pela EPSJV compreende a diversidade como aspecto constitutivo da vida humana e, assim, a escola buscou formular processos educativos que viabilizassem contato com o meio social no ambiente escolar, preparando-me para uma futura inserção no mundo do trabalho.

Ao chegar na fase de estágio do curso técnico em Biotecnologia, um novo desafio é imposto: aprendizagem em local de trabalho. Nesse momento, um planejamento pedagógico individualizado foi construído a fim de dialogar com as possibilidades do estudante, contribuindo, dessa forma, para o desenvolvimento de suas potencialidades. Este instrumento tem por objetivo dialogar com as áreas destinadas à formação técnica em Biotecnologia em Saúde de modo a prepará-lo para o ingresso no mundo do trabalho.

A conjugação de conhecimentos teóricos ao prático através de exercícios dentro de uma realidade de trabalho, desafiando a capacidade cerebral para criar novas conexões neurais, vai ao encontro da neuroplasticidade cerebral.

Portanto, esse trabalho possui grande importância não apenas no aspecto técnico, mas principalmente na questão da socialização. É importante destacar ainda que estudos e terapias relacionados à Síndrome de Asperger são direcionadas majoritariamente a pesquisas com

crianças, tornando o autista adulto invisível para a sociedade. Neste sentido, escrever sobre esse processo pode contribuir para estudos sobre o processo de formação profissional de autistas adultos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a importância das atividades práticas realizadas no curso técnico de nível médio em Biotecnologia, como estratégias fundamentais para o desenvolvimento do processo de ensino-aprendizagem.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Descrever as metodologias práticas desenvolvidas em cinco áreas de conhecimento: Biossegurança, Biologia Molecular, Microbiologia e Imunologia.
- 2) Analisar como estas atividades dialogam com os fundamentos teóricos das respectivas disciplinas.

3. METODOLOGIA

As metodologias serão empregadas em respostas às áreas relacionadas à temática do estágio, sendo elas: Biologia Molecular, Microbiologia, Imunologia e Biossegurança, conforme o fluxograma apresentado abaixo.

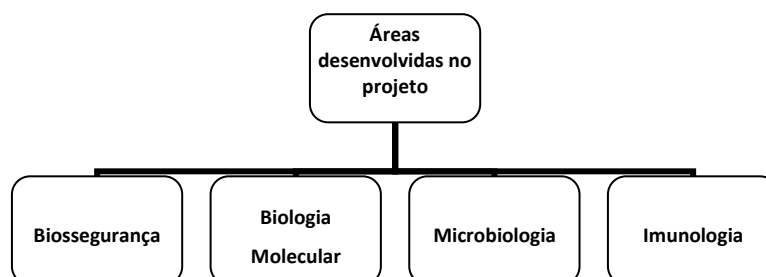


Figura 1 – Fluxograma de trabalho parcial indicando as áreas de concentração.

3.1 – BIOSSEGURANÇA:

3.1.1 – Introdução a Biossegurança:

Biossegurança é de fundamental importância para a formação técnica em saúde uma vez que perpassa por todas as outras disciplinas, principalmente as que realizam atividades práticas laboratoriais.

Apresentação da infraestrutura dos laboratórios da EPSJV, bem como o reconhecimento dos equipamentos de cada sala e seus riscos associados foi a primeira etapa do estágio. Identificação e uso correto de Equipamento de Proteção Individual (EPI), tais como jalecos, luvas, touca, máscara, óculos de proteção e Equipamento de Proteção Coletiva (EPC), como por exemplo, cabine de segurança biológica, capelas químicas, chuveiro e lava olhos, também foram abordados nesse primeiro momento.

3.1.1 – Protocolo Operacional Padrão (POP):

Apresentação do Protocolo Operacional Padrão (POP) que é usado nos laboratórios para o uso devido de um equipamento ou técnica. Para isso, foi mostrada a estrutura / roteiro de POP's

padronizados no LATEC/EPSJV. Também foi evidenciada a necessidade de ter uma equipe envolvida na elaboração de um POP.

3.1.2 - Visita ao laboratório de avaliação e promoção da saúde ambiental (LAPSA/IOC):

Elaboração de gel de bis – poli(acrilamida 15% no laboratório de avaliação e promoção da saúde ambiental (LAPSA/IOC). Esse gel permite a análise de proteínas, bem como de ácidos nucleicos como o RNA (Ácido Ribonucleico) e produtos amplificados pela técnica da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

1- Running gel – gel de corrida (volume final de aproximadamente 15mL, 1mini gel):

a) Gel 10% -

| | | |
|---|-------|--------|
| Acrilamida 30% + Bisacrilamida 0,8% | ----- | 5000uL |
| Tris-HCl 1,5 mol L ⁻¹ (pH 8,8) | ----- | 3750uL |
| SDS 10% | ----- | 150uL |
| Água ultra-pura | ----- | 6000uL |
| PSA (10%) x2 | ----- | 300uL |
| TEMED x2 | ----- | 40uL |

b) Gel 15% -

| | | |
|---|-------|--------|
| Acrilamida 30% + Bisacrilamida 0,8% | ----- | 7500uL |
| Tris-HCl 1,5 mol L ⁻¹ (pH 8,8) | ----- | 3750uL |
| SDS 10% | ----- | 150uL |
| Água ultra-pura | ----- | 3526uL |
| PSA (10%) x2 | ----- | 600uL |
| TEMED x2 | ----- | 80uL |

2- Staking gel– Gel de empilhamento (volume final de aproximadamente 5mL, 1 mini gel):

a) Gel 4%

| | | |
|---|-------|--------|
| Acrilamida 30% + Bisacrilamida 0,8% | ----- | 650uL |
| Tris-HCl 1,5 mol L ⁻¹ (pH 8,8) | ----- | 1250uL |
| SDS 10% | ----- | 50uL |

| | |
|-----------------------|--------|
| Água ultra-pura ----- | 3200uL |
| PSA (10%) x2 ----- | 140uL |
| TEMED x2 ----- | 80uL |

Foi realizada a identificação das espécies através de chave de identificação, acompanhando-se todas as etapas de dissecação de elasmobrânquios. Em seguida, foi feita a pesagem de material biológico para posterior análise de contaminantes ambientais. Por fim, realizou-se depois a desinfecção de materiais e superfícies depois foi feita a desinfecção de materiais e superfícies.

A primeira etapa, ao chegar no laboratório, buscou identificar os espécimes através da chave de identificação de tubarões e raias do estado do Rio de Janeiro. Foram identificados como 3 espécimes de *Rhizoprionodon lalandi*.

Após a identificação da espécie, foi atribuído uma numeração para cada animal a fim de identificar as amostras no laboratório:

- 1) preparo dos tubos falcon com a identificação de cada órgão e número de espécime;
- 2) colocação dos EPI's.
- 3) Preparo da bancada para dissecação. Desinfecção de superfície com hipocloreto a 1% e álcool 70% e separação dos materiais (placas de petri, tesouras, bisturi, seringas, agulhas, fita métrica, balança, lâmina e espátula).

3.2. BIOLOGIA MOLECULAR:

As práticas elencadas para o estágio em Biologia Molecular foram pensadas a partir das demandas apresentadas para o profissional de biotecnologia nas diferentes funções que o competem, tanto para as áreas de pesquisa, quanto para o ensino e produção visando o mundo do trabalho para além dos espaços da Fiocruz.

3.2.1 - Ensaio de Digestão com a enzima EcoR1: A técnica apresentada permite o isolamento de fragmentos de interesse da molécula de DNA, assim como pode ser utilizada para a manipulação de ensaios voltados para a edição gênica.

Cálculo da unidade: 20.000 U/mL

20.000 U (unidades) ----- 1000 µL

1 U ----- X

X= 0,05 µL (quantidade capaz de digerir 1 µg de DNA). Optamos por usar 1 µL de enzima, extrapolando a quantidade mínima sugerida pelo fabricante, a fim de evitarmos erros de pipetagem devido ao baixo volume.

Para esse teste de eficiência da enzima, usamos um DNA controle (proveniente do kit de clonagem na concentração de 4 ng/µL), um DNA de *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*) extraído por uma ex-aluna¹ da escola durante sua monografia em 2019 (quadro 1).

Quadro 1 - Digestão de DNA de controle e de *T.cruzi* + Tampão EcoRI e Tampão 4.

| DNA controle | DNA controle | DNA <i>T.cruzi</i> | DNA <i>T.cruzi</i> |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1 µL EcoRI | 1 µL EcoRI | 1 µL EcoRI | 1 µL EcoRI |
| 5 µL de tampão EcoRI | 5 µL de tampão 4 | 5 µL de tampão EcoRI | 5 µL de tampão 4 |
| 41 µL de H ₂ O | 41 µL de H ₂ O | 41 µL de H ₂ O | 41 µL de H ₂ O |

As amostras foram incubadas em um banho seco a 37 °C por 2h, seguida de inativação por 20min a 65 °C.

3.2.2 – Eletroforese: Gel de Agarose a 1% para identificação do perfil de digestão do DNA pela enzima EcoRI:

A ex-aluna do curso técnico em Análises Clínicas da EPSJV Thaís Cordeiro da Silva realizou um estudo comparativo de protocolos de extração de DNA empregados na detecção de *Trypanosoma cruzi*, a fim de avaliar a qualidade dos ácidos nucleicos isolados nos laboratórios de prática da escola e de um laboratório no IOC (Instituto Oswaldo Cruz) com área específica para práticas de Biologia Molecular. Portanto, apesar do laboratório de ensino não haver área específica destinada à realização de técnicas sensíveis e minuciosas o mesmo mostrou-se apto à realização de tais procedimentos voltados para a capacitação profissional, bem como para o estímulo à pesquisa ao aluno de médio.

Pesamos 0,5g de agarose em 50 mL de tampão Tris - Borato EDTA (TBE 0,5X). Em seguida, levamos ao micro-ondas por cerca de 1 hora e 30 minutos, até que a solução se tornasse homogênea. Acrescentamos 4 µL de intercalante molecular usado para visualização dos fragmentos de ácidos nucleicos, após eletroforese, no aparelho transiluminador.

3.2.3 – Otimização do protocolo de digestão de DNA pelo EcoRI:

A imagem do gel anterior, sugeriu a aparecimento de bandas para o DNA de *T.cruzi* tratado com a enzima e o tampão 4. Sendo assim, outros ensaios foram realizados para buscarmos os ajustes necessários (Quadro 2).

Quadro 2 – Digestão de DNA de *T.cruzi* + Tampão 4:

| DNA (3µL) | DNA (6µL) | DNA (9µL) |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1 µL EcoRI | 1 µL EcoRI | 1 µL EcoRI |
| 5 µL de tampão (4) | 5 µL de tampão (4) | 5 µL de tampão (4) |
| 41 µL de H ₂ O | 38 µL de H ₂ O | 35 µL de H ₂ O |

As amostras foram incubadas em um banho seco a 37 °C por 2h, seguida de inativação por 20min a 65 °C.

3.2.3 – Extração de DNA de *T.cruzi*: Protocolo com o Kit da empresa MP

Ressuspendemos o isolado celular a partir da adição de 200 µL de solução salina estéril com 1 mL de solução CLS-TC; após a homogeneização, centrifugamos a 14000 rpm por 7 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Adicionamos o mesmo volume transferido de *Binding Matrix* vertendo o tubo para misturar (tubo cônico de 15mL para contemplar todo o volume). Incubamos a temperatura ambiente por 5 minutos. Transferimos a metade do volume para a coluna (~800 µL), centrifugar a 14000 rpm (g) por 1 minuto. Descartamos o que foi eluído da coluna e uma nova centrifugação foi realizada à 14000 rpm por 1 minuto. Adicionamos 500 µL do, já preparado, SEWS-m e ressuspendemos o *pellet* (usando a força da ponteira). Centrifugamos a 14000 rpm por 2 minutos (para evaporar o etanol). Novo tubo coletor foi adicionado para a eluição do DNA. Ressuspendemos cuidadosamente o DNA na

matriz após a adição de 100 µL de DES. Fechamos a tampa da coluna e incubamos por 5 minutos a 55 °C. Centrifugação à 14000 rpm por 1 min (a coluna usada para a extração de DNA é provavelmente de outro kit - Quiagem®).

3.2.4 – Extração de DNA de *T.cruzi*: DNAzol

Para a etapa Lise celular, centrifugamos as células em ressuspensão a 3.000 rpm por 10 minutos. Retiramos o sobrenadante e acrescentamos 1mL de DNAzol para 1-3 células (1×10^7 células / mL) com auxílio da pipeta.

Em seguida, para a etapa de precipitação do DNA, adicionamos 500 µL de etanol (ETOH) absoluto (100%) (para cada 1ml de DNAzol usado). Homogeneizamos as amostras por inversão e incubamos a temperatura ambiente (TA) 1-3 minutos. Retiramos o etanol com cuidado ao remover a “nuvem” (essa formação indica a presença de DNA no meio, nossa molécula de interesse). A lavagem do DNA foi feita através do uso etanol 75% (800-1000 µL) por duas vezes. Para cada lavagem vertia-se o tubo por 6x. Em seguida, o tubo ficou aberto por 1 minuto para evaporar o etanol. A solubilização do DNA (ressuspensão) foi realizada após a remoção dos resíduos de álcool, com 200-300 µL de NaOH 8mn.

3.2.5 - Quantificação de DNA por espectrofotometria:

Para verificarmos o grau de pureza dos DNA extraídos, assim como as devidas concentrações, realizamos a leitura das amostras pelo método de espectrofotometria usando o QUBIT Fluorometric Quantification (Thermo Fisher Scientific®).



Figura 2 – Espectrofotômetro: Qubit Fluorometric Quantification (ThermoFisher Scientific) Padrões para os kits

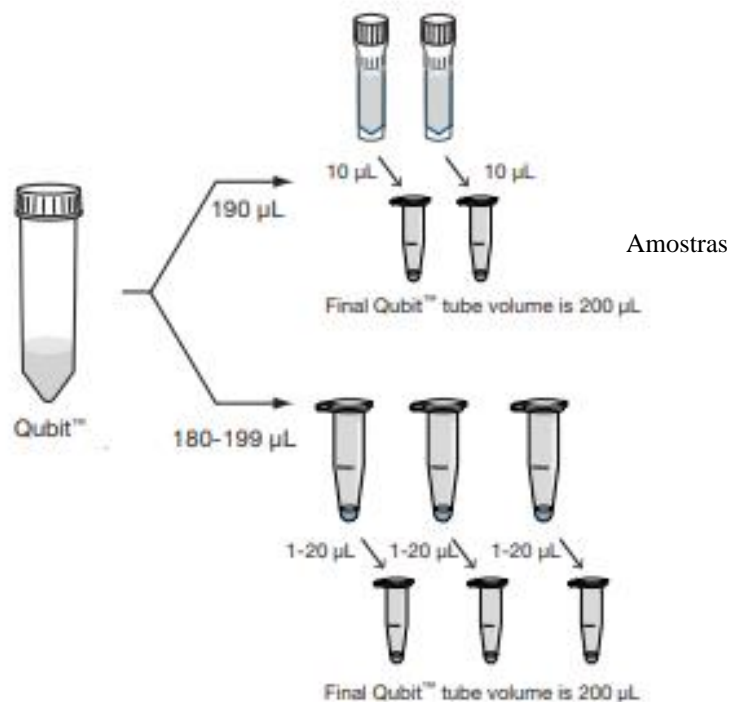


Figura 3 – Esquema indicando o preparo das amostras antes da leitura no espectrofotômetro. A análise fluorimétrica determina as concentrações médias de DNA, RNA ou proteína presentes em uma amostra, assim como seu grau de pureza. A medição é feita através da absorção de luz feita pelo DNA em solução no comprimento de onda de 260 nm; quanto maior a absorção de luz nesse comprimento de onda, maior será a concentração de DNA presente na amostra em análise. Os padrões são soluções com comprimento de onda conhecidos usados para a formação de um gráfico para comparação.

3.2.6 – Reação em cadeia da Polimerase (PCR):

A técnica da PCR usada foi a qualitativa convencional, necessitando posteriormente da realização de eletroforese para a visualização dos fragmentos amplificados.

Para a realização da PCR, foi adicionado 1 µL de dNTP (10mM), 4 µL de Mg⁺² (25mM), 5 µL de tampão 5 X *Green buffer* (Promega®), 27,7 µL de H₂O e 0,3 µL da enzima polimerase GoTaq® DNA polymerase. Os iniciadores usados (*primers*) foram desenhados para a região do gene da cisteíno-peptidase - 1 µL de cada iniciador (10µM) no preparo do mix da reação. As sequências dos iniciadores desenhadas foram as seguintes: *Forward*:

5'GTGCGACAAAACGGACTCTG3' e *Reverse*: 5'CGACGCATAAGGGTAGCTGT3'. Ao final do preparo do mix da reação de PCR, foi acrescentado 5 µL de DNA totalizando 50 µL de volume final.

A amplificação foi feita obedecendo ao perfil térmico de 96°C por 10 minutos, seguidos por 35 ciclos das seguintes condições: aquecimento inicial a 96°C por 2 minutos para ativação da enzima, seguida de 35 ciclos a 95°C por 30 segundos, 55°C durante 45 segundos e 72°C durante 45 segundos. Foi finalizado com uma extensão térmica de 72°C durante 10 minutos.

3.3. MICROBIOLOGIA:

O estudo de microbiologia e suas atividades práticas estão relacionados à formação técnica em Biotecnologia, uma vez que a identificação e manipulação de microrganismos faz parte da rotina nos laboratórios de pesquisa, clínico e na indústria na elaboração de kits para diagnóstico ou insumos para o estudo e produção de vacinas entre outros medicamentos.

3.3.1 – Teste para aula prática para a identificação de fungos:

Foi escolhida uma amostra de alimento em estado de decomposição cuja aparência sugeria a presença de fungos. A observação foi realizada através do uso de um microscópio estereoscópico (lupa aumento 2.10x).

3.3.2 – Coloração de leveduras com azul de metileno

Lavar as mãos com água e sabão antes de iniciar os procedimentos. A amostra foi homogeneizada, por agitação do sachê de fermento biológico composto por leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* – em 5mL de água destilada com pipeta sorológica graduada de 1mL. As leveduras, presentes no fermento biológico, foram hidratadas em um tubo cônico de 15 mL tipo Falcon®. Adicionamos uma pequena quantidade de açúcar com a espátula de metal e colocamos na estante de tubos por 3 minutos. Adicionamos uma gota de azul de metileno e incubamos por mais 3 minutos. Homogeneizamos a mistura agitando o tubo cônico de 15 mL e, em seguida, transferimos uma gota da amostra preparada com corante em uma lâmina e cobrimos

com lamínula para ser observada ao microscópio óptico. Inicia-se a visualização utilizando a objetiva de 4x, aumentando gradativamente (4x, 10x, 20x).

3.3.3 – Calibração de pHmetro (pH5-3e – Vetehlab)

Os eletrodos foram limpos com água destilada e inseridos em um becker contendo 30 mL de uma solução tampão pH=7,86. Iniciamos com a calibração do aparelho (a tecla *mode* foi pressionada para exibir o modo *STD1 - standard*). A medição de solução tampão foi estabilizada e, em seguida, pressionamos a tecla *enter* para realizarmos as análises. Repetimos os mesmos passos com uma solução tampão de pH 4,0 dessa vez no modo *STD2*. Posteriormente, pressionamos *enter* novamente para confirmar a operação e depois a tecla *mode* para entrar no modo de medição.

Para a medição do pH, a ponteira do eletrodo e a sonda de temperatura foram higienizadas, a fim de evitar contaminação. Ambos foram imersos na solução teste a qual foi homogeneizada previamente a medição. Durante a medição, a solução teste foi agitada realizando movimentos circulares com o Becker. Por fim, o eletrodo e a sonda de temperatura foram devidamente higienizados com água destilada e o eletrodo foi acondicionado em solução de KCL 3M.

3.3.4 – Preparo de Meio de Cultura (BHI – *Brains Heart Infusion*)

Fizemos 5 placas de meio de cultura, sendo que 1 placa tem capacidade para 20 mL de meio, logo:

1 placa ----- 20 mL

5 placas----- X

X= 120 mL de meio

De acordo com protocolo do fabricante, 5,2 g de meio BHI é usado para a elaboração de 1L (1000 mL) de meio. Então:

5,2 g -----1000 mL

X g ----- 120 mL

X= 6,24g de meio BHI

Portanto, após a pesagem do meio em uma balança analítica, adicionamos metade do volume desejado de água destilada ao erlenmeyer. Homogeneizamos usando um agitador magnético com aquecimento brando (em torno de 50°C). Completamos o volume até atingir o volume de 120 mL. Verificamos o pH, tampamos de maneira adequada e levamos o meio para ser autoclavado (121°C por 15 minutos a 1 atm).

3.3.5 – Esterilização de Material em Autoclave:

O primeiro passo foi ligar a autoclave, seguindo da abertura da tampa do equipamento. Enchemos a caldeira com água destilada de forma a cobrir a resistência até chegar ao descanso do cesto (cruz de metal). Acomodamos o erlenmeyer contendo o meio a ser autoclavado, deixando espaço para o vapor circular por toda a caldeira. Fechamos a tampa ajustando os manípulos antagônicos (que se apresentam em sentido contrário) em dupla, com igual intensidade de força. Abrimos o registro de vapor e ligamos a chave comutadora no máximo. Aguardamos a saída de vapor fluente no bico do registro, aguardamos de 5 a 10 minutos e, em seguida, fechamos. Após atingir a pressão de trabalho (1KGF a 121°C), deverá ser ajustada deslocando o contrapeso para frente (menor pressão) ou para trás (maior pressão). Em seguida, mudamos a chave para a posição mínima, a fim de mantermos a pressão, iniciando a contagem do tempo. Após o término da esterilização, desligamos a chave comutadora e esperamos a pressão zerar (manômetro) para que pudéssemos abrir o registro para liberação de vapor de maneira segura. Finalmente, retiramos o meio de cultura esterilizado.

3.4. IMUNOLOGIA:

A disciplina de Imunologia integra a formação técnica em Biotecnologia por estar aplicada diretamente ao mundo do trabalho, seja na elaboração de testes para imunodiagnósticos,

como na terapia através do uso de anticorpos monoclonais, estrutura de vacinas entre outras possibilidades de vivência.

3.4.1 - Diluição/Diluição seriada:

Diluição de um diluente em uma solução que diminui a sua concentração. Para isso, usamos a fórmula: $C_1V_1=C_2V_2$, em que C_1 corresponde à concentração inicial, V_1 é igual ao volume inicial, C_2 está relacionado à concentração final e V_2 ao volume final.

Usamos os seguintes materiais:

- Solução de azul de metileno
- Água destilada
- Placas de diluição
- Micropipetas/ponteiras (0,5 a 10 μ L; 20 a 200 μ L; 100 a 1000 μ L)

Diluição seriada: diluições progressivas são a fonte de diluição para cada nova diluição e a solução anterior. Essa técnica é útil quando se tem um pequeno volume da solução a ser diluída e também para determinar títulos de anticorpos.

Procedimento:

A solução de azul de metileno foi diluído nas concentrações: 1:25, 1:40, 1:60, 1:100, considerando a solução de azul de metileno 1:1 (pura):

Cálculo:

$$1:25 = 1.V_1=1/25 . 1000 = v_1=40\mu \text{ azul metileno}$$

960 μ L diluente/1000 μ L

40 μ L azul + 960 μ L de água (diluente)

$$1:40 = 1.V_1=1/40 . 1000 = V_1=25\mu\text{L}$$

25 μ L azul metileno

975 μ L/1000 μ L diluente

$$1:50 = 1.V_1= 1/50 . 1000 = V_1= 50\mu\text{L azul metileno e } 950\mu\text{L de diluente}$$

$$1:50 = 1.V_1= 1/50 . 1000 = V_1= 10\mu\text{L azul metileno e } 990\mu\text{L diluente}$$

Após as diluições, foi realizada a diluição seriada em placa de diluição mapa de trabalho, de acordo com a figura 4. Na placa de diluição foram adicionados 200µL a solução 1:25 no 1º poço (A1), a de 1:40 no poço C1, 1:50 no poço E1 e a de 1:100 no poço G1. Nos outros poços: 100µL 1poço de diluente. Para cada concentração foi realizada a diluição seriada somando 100µL para o poço seguinte e homogeneizando.

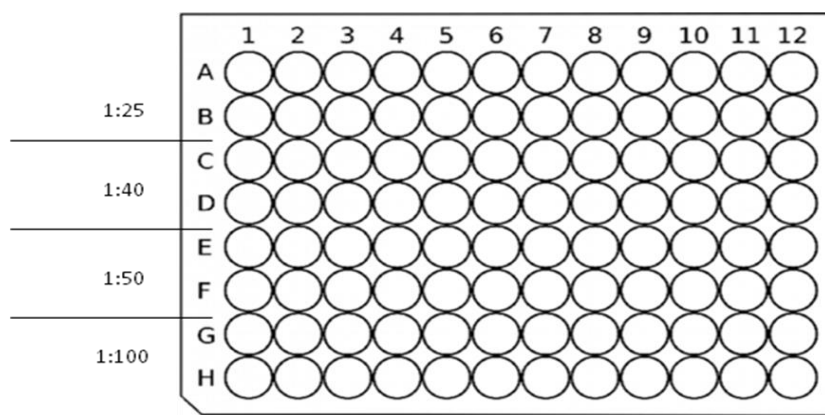


Figura 4 – Esquema indicando uma placa de 96 poços.

3.4.2 – Imunocromatografia – Leishmaniose visceral canina:

Teste rápido qualitativo para a detecção de anticorpos de cão para *Leishmania* spp. é um teste imunocromatográfico de uso único para a detecção, em cães, de anticorpos específicos para *Leishmania* spp. presente no soro, plasma ou sangue total.

A amostra foi aplicada no poço 1 (amostra + tampão), seguida pela adição do tampão de corrida. O tampão propicia o fluxo lateral, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos. Após a migração da amostra e do tampão ao longo do suporte de teste, adicionamos o tampão de corrida ao poço 2 (tampão). O conjugado se liga aos anticorpos específicos para *Leishmania* spp., produzindo uma linha roxa / rosa na área de controle (C)), demonstrando, dessa forma, o funcionamento adequado dos reagentes.

Procedimento:

A alça coletora foi encostada na amostra a ser testada permitindo que a mesma fosse preenchida. Alternativamente, pode-se utilizar pipetas automáticas ajustadas para um volume de 5 μ L, na área de aplicação de amostra, no poço 1 (amostra + tampão). Viramos o frasco tampão e mantivemos na posição vertical (sem inclinar) sobre o poço 1 (amostra + tampão) e adicionamos 2 gotas lentamente ao poço. Incubamos por 5 minutos e, posteriormente, verificamos se as linhas desapareceram, caso contrário, teríamos que descartar o suporte. Viramos o frasco tampão e mantemos na posição vertical (sem inclinar) sobre o poço 2 (tampão) e adicionamos 4 gotas, lentamente, ao poço e incubamos por mais 10 minutos à temperatura ambiente.

3.4.3 - Ensaio Imunoenzimático- EIE COVID-19:

O método imunoenzimático consiste na reação de anticorpos presentes no soro ou plasma humano com antígeno recombinante de SARS-Cov-2. O antígeno é previamente adsorvido nas cavidades de microplacas/ *strips* (fase sólida). A seguir, adicionamos os soros controle positivo, negativo e as amostras, devidamente diluídos. Caso as amostras possuam anticorpos IgG específicos, estes se ligam ao antígeno na fase sólida.

Na etapa seguinte, adicionamos um conjugado específico, anti-imunoglobulina G humana, marcado com a enzima peroxidase. Na presença de anticorpos específicos, ocorre a ligação conjugado ao anticorpo, que poderá ser evidenciada com a adição de uma substância cromógena (com cor).

A peroxidase, juntamente com o peróxido de hidrogênio, formará um composto de coloração azul turquesa que, ao adicionar o ácido sulfúrico, interrompe a reação e passa a apresentar uma coloração amarela, positivo (reagente). Nas cavidades que não houver anticorpos específicos, não haverá desenvolvimento de cor, o que caracteriza uma reação negativa (não reagente).

Os resultados podem ser avaliados por meio de espectrofotômetro para microplacas em comprimento de ondas de 450nm.

Os reagentes usados foram diluentes de amostra/conjugado (2X); tampão de lavagem (20X); Solução reveladora, Ácido Sulfúrico 2M, Controle Positivo, Controle Negativo e Conjugado.

Prepararmos o diluente de amostras/conjugado (2x), conforme o número de amostras a serem realizadas (40mL de diluente + 4 mL de água destilada) – 6 mL/grupo – PRONTO. Em seguida, diluímos em tubos 5 μ L dos controles e das amostras de soros a serem analisadas, previamente homogeneizadas, em 495 μ L do diluente de amostra/conjugado (1:100). Distribuímos 100 μ L dos controles já diluídos em dois poços cada, e também o diluente da amostra/conjugado (sem soro) que servirá de controle do conjugado (sem soro) que servirá de controle do conjugado. Nos outros poços, distribuímos 100 μ L das amostras testes já diluídas. Selamos os strips com folha adesiva e incubamos a 37°C por 30 minutos.

Preparamos o tampão de lavagem 1x (1:20) conforme o número de amostras a serem realizadas (10 mL de tampão de lavagem 2x em 190 mL de água destilada) = 200mL - 30mL/grupo - PRONTO. Descolamos, cuidadosamente, a folha adesiva, descartar o conteúdo das strips e lavar 2 vezes com o tampão de lavagem (200 μ L/poço). Aguardar 30 a 60 segundos entre cada lavagem; realizamos a diluição do conjugado (1:100) no diluente de amostra/conjugado 1X, preparado conforme o número de amostras a serem realizadas (120 μ L conjugado mL em 19.880 mL de diluente de amostra/ conjugado diluído (pronto) - 3 mL/ grupo; Homogeneizamos bem e distribuir 100 μ L da diluição do conjugado em cada poço dos strips;

Selamos e incubamos os strips novamente. Preparamos a solução reveladora (preferencialmente em frasco escuro) - 2 mL/ grupo; distribuímos 100 μ L da solução reveladora rapidamente em todos os poços; incubamos a temperatura ambiente, ao abrigo da luz, durante 10 minutos; para o bloquear a reação adicionando 50 μ L de Ácido Sulfúrico 2M em todos os poços - 1 mL/ grupo. Em seguida, proceder a leitura em espectrofotômetro com filtro de 450 nm sem a utilização do filtro de referência 620-630 nm.

Consideraremos o teste válido quando os valores da Densidade óptica (D.O.) estiverem na faixa descrita: controle positivo $\geq 0,600$ de DO, Controle negativo $\geq 0,050 \leq 0,120$ de DO

A linha de corte (cut-off) é determinada através da média das Densidades Óticas (DO) d média dos soros Controle Negativo + 0,15. Faixa cinza= D.O. Cut-off x 1,2.

4. RESULTADOS:

4.1 – Biossegurança:

As técnicas aprendidas durante as aulas e estágio em Biossegurança foram aplicadas para as demais práticas desenvolvidas no laboratório durante o estágio.

A análise do gel de poliacrilamida realizado em visita técnica ao laboratório de avaliação e promoção da saúde ambiental (LAPSA/IOC). Esse gel permite a visualização de proteínas de forma geral, sendo, portanto, muito utilizado em procedimentos que envolvam estudos relacionados à Bioquímica e à Biologia Molecular.

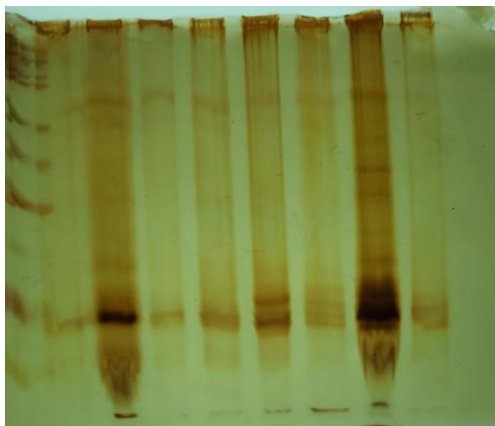


Figura 5 - Gel de poliacrilamida 15% - Bili de tubarão e raia para análise dos experimentos envolvidos no doutoramento de uma aluna do laboratório de avaliação e promoção da saúde ambiental (LAPSA/IOC). Coloração por prata.

4.2 – Biologia Molecular

4.2.1 – Ensaio de Digestão com a enzima EcoR1:

O uso de enzimas de restrição, também denominadas como endonucleases, foi amplamente usada em ensaios voltados para investigação forense na década de 1980 e 1990, gerando perfis de DNA durante identificação de suspeitos envolvidos nas cenas de crimes. Atualmente, essas enzimas são usadas como ferramentas moleculares em técnicas relacionadas à

edição gênica, como CRISPR/Cas9 e clonagem gênica. Portanto, saber a técnica é importante na formação profissional em Biotecnologia.

A análise da eletroforese nos revelou que DNA de *Trypanosma cruzi* (*T. cruzi*) tratado com a enzima de restrição Eco-RI, usando o tampão 4, apresentou fragmentos eficientes na molécula do DNA (Poço 10 da figura 6).



Figura 6- Gel de agarose de 1%: Poços 1 e 2 – Marcador molecular de 100 pb. Poço 3 contendo 3uL DNA controle (4 ng/uL) do kit do plasmídeo pGem-Teasy vector (Promega). Poços 4 e 5, 3uL de DNA controle + 1 uL de EcoRI e 5uL de tampão para EcoRI. Poço 5, 3 uL de DNA controle + 1 uL de EcoRI e 5 uL do tampão (da mesma empresa da enzima). Poços 6 e 7, 3 uL do DNA de *T.cruzi* (Thaís Cordeiro, 2019 – 380 ng/uL). Poços 8 e 9, 3 uL de DNA *T.cruzi* + 1 uL de EcoRI + 5 uL do tampão principal da EcoRI. Poço 10 contendo 3 uL de DNA *T.cruzi* + 1 uL de EcoRI + 5 uL do tampão 4 da EcoRI

Sendo assim, outro experimento foi realizado para otimizar as condições de visualização da amostra como demonstrado na figura 7 (poços 3, 5 e 7).

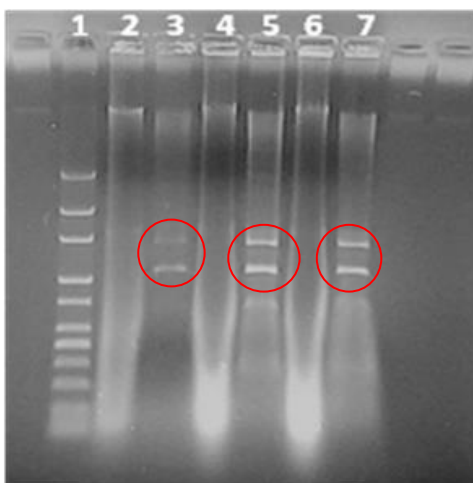


Figura 7 - Gel de agarose 1%. Poço 1 contém marcador molecular de 100 pb; Poço 2, 3 uL de DNA total de *T. cruzi*; poço 3 com 3 uL de DNA total de *T. cruzi* + *EcoRI*; poço 4 com 6uL de DNA total de *T. cruzi*; poço 5 com 6 uL de DNA total de *T. cruzi* + *EcoRI*; poço 6 com 9uL de DNA total de *T. cruzi*; poço 7 com 9 uL de DNA total de *T. cruzi* + *EcoRI*

4.2.2 – Extração de DNA de *Trypanosoma cruzi*

A técnica de extração de DNA é a etapa primordial nos estudos de Biologia Molecular. Realizamos a técnica de extração de DNA com 2 protocolos diferentes: FastDNA kit (MP[®]) e DNAZOL (Invitrogen[®]).

O primeiro kit, embora seja capaz de isolar DNA genômico de maneira rápida e eficiente, não estava completo; substituímos um dos reagentes desse kit por outro similar, mas de empresa diferente. O resultado mostrou uma extração de baixa qualidade e rendimento. A baixa qualidade apresentada pode estar relacionada à substituição dos reagentes. Esse teste foi importante para verificarmos a viabilidade de um kit que foi ofertado à escola sem um determinado componente; então empregamos uma estratégia para tentar o uso do mesmo nas aulas práticas da disciplina de Biologia Molecular.

O segundo reagente usado para extração de DNA foi o DNAZOL. A primeira extração teve um baixo rendimento; repetimos o protocolo em outro dia, e obtivemos DNA de qualidade (figura 7) para a realização da próxima técnica de amplificação do trecho (uma região) correspondente ao gene da cisteína peptidase através da PCR. Cada extração de DNA foi realizada em duplicada técnica (Quadro 3).

Quadro 3 – Resultado da leitura das concentrações de DNA pelo QUBIT®. Apenas as amostras de DNA extraídas no dia 12/09/22 é que possuem concentração suficiente para a amplificação pela técnica da PCR.

| DNA extraído | Data | Concentração (ng/mL) |
|----------------|------------|----------------------|
| DNA 1 (MP) | 24/08/2022 | 0,2 |
| DNA 1 (MP) | 24/08/2022 | 0,11 |
| DNA 1 (DNAZOL) | 30/08/2022 | 0,22 |
| DNA 2 (DNAZOL) | 30/08/2022 | 0,38 |
| DNA 1 (DNAZOL) | 12/09/2022 | 13,3 |
| DNA2 (DNAZOL) | 12/09/2022 | 51,0 |

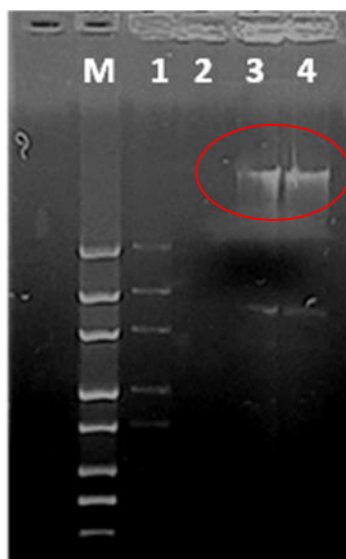


Figura 8 - Gel de agarose a 1% - M= marcador molecular de 100 pb. Poço 1 vazio, poço 2 controle positivo (DNA antigo) e poços 3 e 4 com DNA 1 (13,3 ng/uL) e 2 (51 ng/uL) extraídos com DNAzol

4.2.3 – Reação em cadeia da Polimerase (PCR):

Realizamos a PCR para analisarmos uma região específica do gene da cruzipaina, a proteína mais abundante da família da cisteína peptidase do *Trypanosoma cruzi* (agente

etiológico da doença de Chagas). Essa proteína é um fator de virulência associado às etapas de interação com as células de mamíferos, sendo mais expressas nas formas epimastigotas (forma replicativa do *T.cruzi* no estômago do vetor – popularmente conhecido como barbeiro).

A figura 9 evidencia a amplificação das amostras de DNA de *T.cruzi* extraídos previamente. A amplificação das regiões de interesse são demonstradas pela visualização de fragmentos (bandas), identificadas entre os poços 1 a 7 da referida figura. O poço M (marcador molecular cujas bandas representam DNA de tamanhos conhecidos) corrobora a região amplificada, visto que está de acordo com o tamanho do fragmento esperado: 118 pb.

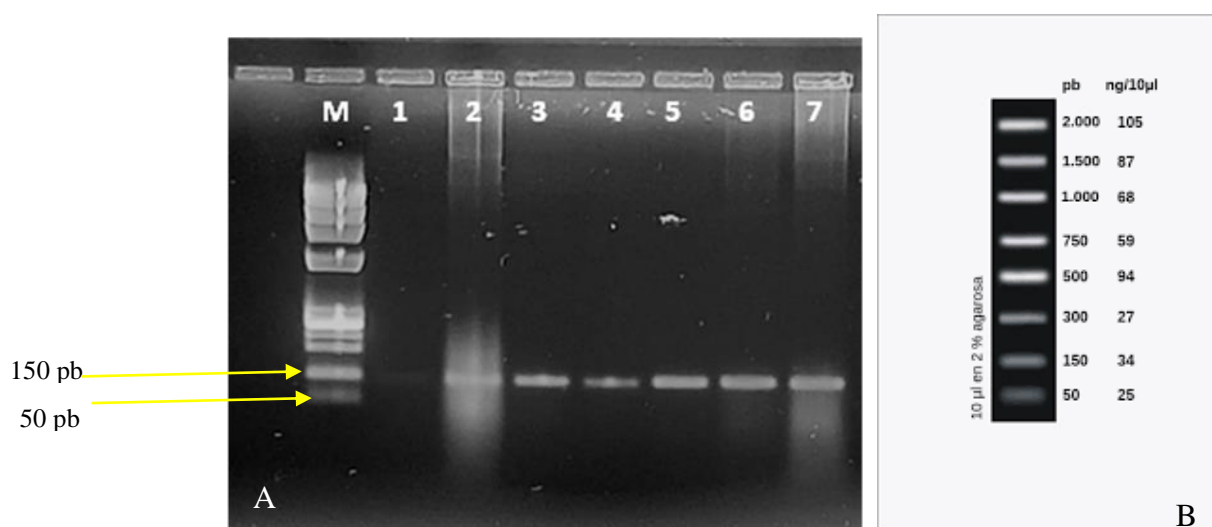


Figura 9 – Figura A: Gel de agarose 1,5% . Visualização dos fragmentos amplificados pela PCR. Onde M equivale o marcador molecular de 100 pb (pares de bases); poço 1 contém o controle negativo da reação de PCR; poço 2 possui o controle positivo da PCR. Poços 3 e 4 são os produtos amplificados com DNA extraído do DNAzol (DNA 1 e 2 respectivamente), sem o tratamento com a enzima de restrição EcoRI. Do poço 5 ao 7, representa o DNA extraído com DNAzol e tratados com 3μL de EcoRI, 6μL de EcoRI e 9μL de EcoRI, respectivamente. Figura B: marcador molecular com os tamanhos conhecidos (174 RF Invitrogen®).

4.3 – Microbiologia

4.3.1 - Teste para aula prática para a identificação de fungos:

Os alimentos aparentemente deteriorados, selecionados para este teste, foram observados em um microscópio estereoscópio (lupa), em um aumento de 20x, e notou-se a presença de estruturas filamentosas sugestivas de micélio fúngico. A Figura 10 retrata estas estruturas

observadas a partir do crescimento de um pão, cultivado em meio de cultura Agar Sabouraud em um tubo de ensaio. A olho nu foi possível observar um aglomerado de “fios brancos”, compatível com uma colônia fúngica. Mais testes se fazem necessários para confirmar o gênero e a espécie do microrganismo em questão, usando meios de cultura específico para crescimento seletivo ou mesmo técnicas moleculares.

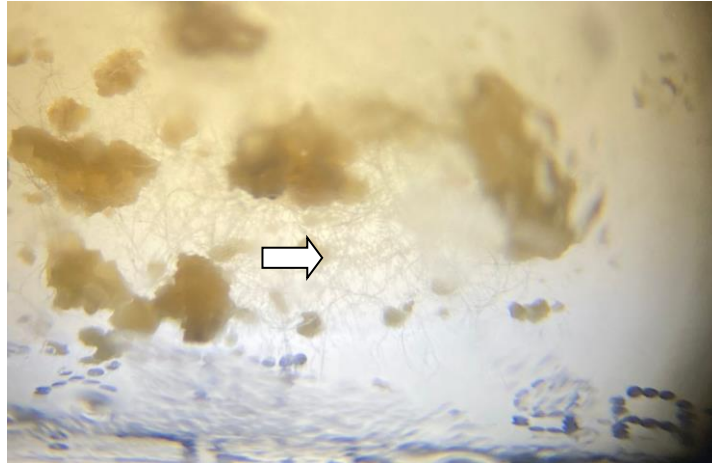


Figura 10 – Presença de estruturas filamentosas, sugestivas de micélio fúngico, em amostra de pão cultivado no meio de cultura Agar Sabouraud

Em seguida, procedeu-se com a homogeneização do fermento biológico, contendo as leveduras de *Saccharomyces cerevisiae*, juntamente com água destilada e corante de azul de metileno. Essa mistura foi observada em microscópio ótico em aumento de 20x, conforme demonstrado na figura 11.

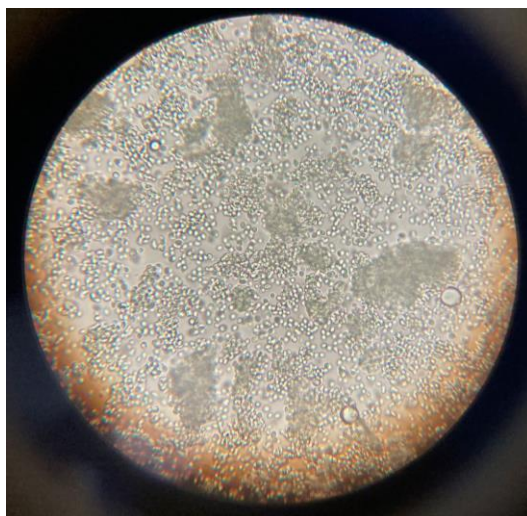


Figura 11 – Leveduras de *Saccharomyces cerevisiae* coradas com azul de metileno e observadas em microscópio ótico em aumento de 20x.

4.3.2 - Calibração de pHmetro (pH5-3e – Vetehlab)

Para a calibração do pHmetro foram medidos os pHs das seguintes soluções: duas soluções tampão TBE 1x (solução composta de tris base, ácido bórico e EDTA) distintas e um vinho tinto utilizado para aula prática. Os resultados obtidos podem ser observados no quadro 4.

Quadro 4 – Valores de pH obtidos a partir da mensuração utilizando o pHmetro

| Solução | pH |
|-------------------------|-----|
| TBE 1x (diluído Nathan) | 8 |
| TBE 1x | 7.8 |
| Vinho | 3.6 |

4.3.3 – Preparo de Meio de Cultura (BHI – *Brains Heart Infusion*)

O meio de cultura Agar BHI, preparado com o intuito de ser utilizado em aulas práticas futuras, após a esterilização em autoclave, se apresentou com um aspecto homogêneo e translúcido (figura 12). O indicador químico utilizado para indicar o funcionamento da autoclave (fita de autoclave) mudou para a cor marrom indicando que o processo de esterilização funcionou.



Figura 12 – Meio de cultura Agar BHI após a autoclavação

4.4 – Imunologia

4.4.1 – Diluição / Diluição seriada:

Resultado da placa de diluição seriada indicando, de acordo com a figura 13, a diminuição das concentrações das amostras.

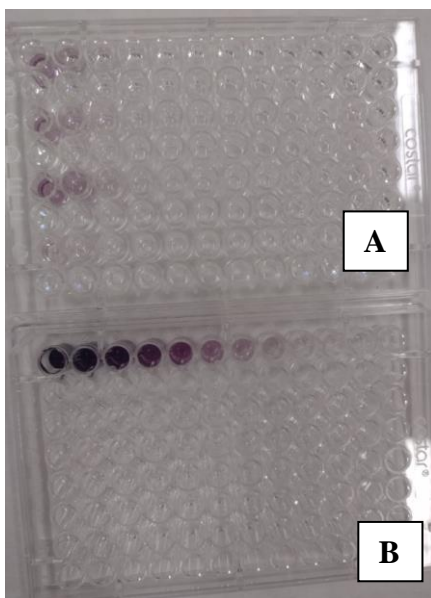


Figura 13 – Placa de 96 poços com as amostras da mais concentrada para a menos concentrada (da esquerda para a direita). Em A temos a diluição da amostra a partir de 1:1. Em B, as diluições de 1:25, 1:40, 1:50 e 1:100.

4.4.2 - Imunocromatografia

A detecção de anticorpos para a detecção de Leishmaniose visceral canina foi realizada através de kits de diagnóstico ²(provenientes de Bio-Manguinhos) estão evidenciados de acordo com a figura 14.

² A parceria com outras unidades da Fiocruz, tais como o Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Bio-Manguinhos e Far-Manguinhos permitem que as aulas práticas das disciplinas dos cursos técnicos da EPSJV sejam realizadas, pois além de fornecerem amostras biológicas, cedem insumos como o ilustrado na figura 13.

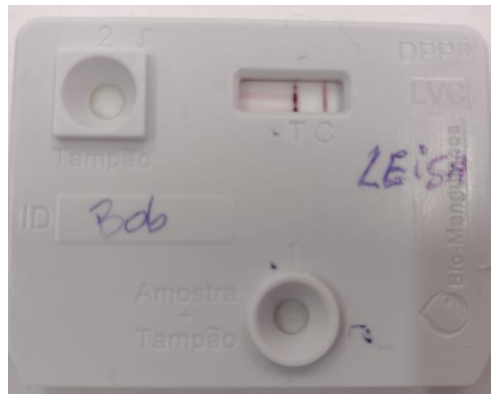


Figura 14 – kit para diagnóstico de *Leishmania SP* canina. Presença de anticorpos com resultado positivo para Leishmaniose visceral canina.

Também realizamos teste para a detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 da classe IgG e IGM, conforme identificado na figura 15.

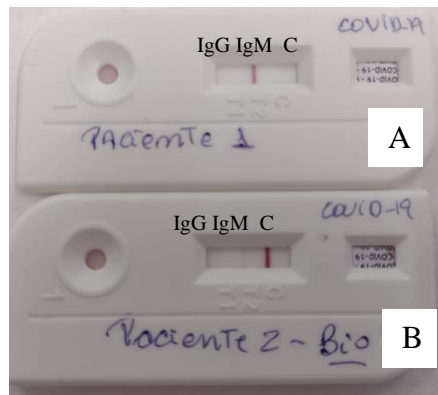


Figura 15 – A: Reação inválida devido à ausência do controle. B: paciente 2, teste válido embora a detecção de IgM tenha sido fraca.

5. CONCLUSÃO:

- ✓ Concluimos com esse estudo, que o ensino integrado entre as atividades práticas e teóricas no processo de ensino aprendizagem se fazem essenciais para a compreensão dos fundamentos nas mais diversas áreas de conhecimento, como as disciplinas abordadas nesse trabalho (Biossegurança, Biologia Molecular, Microbiologia e Imunologia).
- ✓ Verificamos que a atividade prática constante desenvolve a segurança e aprimora o técnico em formação, tornando-o um profissional melhor preparado e apto a ingressar no mundo do trabalho;
- ✓ É possível desenvolver as potencialidades individuais através de uma educação de qualidade e genuinamente inclusiva. A realização de um Plano Educativo Individualizado (PEI) voltado para gerar oportunidade de participação plena e efetiva em igualdade de condições no processo educacional e na sociedade, foi fundamental para o desenvolvimento das habilidades do aluno;

Portanto, o trabalho pedagógico inserido nos laboratórios de práticas da EPSJV, planejado a partir das potencialidades e demandas do estudante, possibilitou o aumento de interação social, uma vez que alguns experimentos foram realizados nas unidades parceiras. Assim, buscou-se ampliar a rede de interlocução e estimulou a comunicação e a interação social do aluno.

Dessa forma, após todo o exposto, pode-se dizer que houve o cuidado e o empenho da instituição educativa de inserir o discente no mundo do trabalho, através de um planejamento específico embasado em suas potencialidades e não em suas limitações, refletindo no aumento de sua autoestima e segurança.

6. REFERÊNCIAS

ASPERGER, H. Problems of infantile autism. *Communication*, 13, 45-52. 1979

Disponível em: <<http://portal.mec.gov.br/component/content/article/30000-uncategorised/52041-catalogo-nacional-de-cursos-superiores-de-tecnologia-2>>. Acesso em: 19 de outubro de 2022

EPSJV. **Projeto Político Pedagógico**. Rio de Janeiro: EPSJV/Fiocruz, 2005.

PEREIRA, I.B.; RAMOS, M.N. **Educação Profissional em Saúde**. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz, 2006.

PIAGET< J. *Psicologia e pedagogia*. Rio de Janeiro: Forense, 1972.

SAVIANI, D. O Choque teórico da politecnicidade. **Trabalho, Educação e Saúde**, 1(1): 131- 152, mar. 2003.

TANTAM, D. **The Journal of Child Psychology and Psychiatry**. Vol. 29, No. 3, pp. 245-255, 1. 1988.